

UCUENCA

Universidad de Cuenca

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Efecto de la adición de propilenglicol en la dieta de vacas Holstein mestizas, sobre la actividad ovárica folicular y la calidad de ovocitos recolectados mediante *Ovum Pick Up*

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista


Autores:

Kevin Marcelo Allauca Auqui

Bryan Ronedwin Largo Pereira

Director:

José Luis Pesantez Pacheco

ORCID:  0000-0002-5669-6014

Cuenca, Ecuador

2024-04-23

Resumen

El estatus energético modifica la respuesta del eje hipotalámico-hipofisiario-gonadal, un déficit nutricional en la hembra influye sobre el desarrollo ovocitario, incrementar la energía en la dieta por medio de un *flushing* permite optimizar su performance. El presente estudio evaluó el efecto de la administración de propilenglicol como fuente de energía sobre el número de folículos y calidad de los ovocitos en vaquillas Holstein mestizas criadas en el trópico alto. Se incluyó un total de 12 animales con edades entre 24 y 32 meses, con condición corporal de 2,5 (valorada en una escala de 1 a 5 puntos); divididos en 2 grupos al azar, control (CON=6) y tratamiento (PPG=6). Se alimentaron bajo un sistema libre al pastoreo, adicionalmente el grupo PPG recibió 309 g diarios de propilenglicol vía oral durante 25 días; se aplicó un protocolo de sincronización de celo: el día 0 se colocó un dispositivo intravaginal (DIV) de liberación de progesterona durante 11 días, el día 2 y 10 se administró una dosis luteolítica de PGF 2α , IM. Para recolectar los COC's (complejo cúmulo ovocito) y evaluar su calidad, se realizaron 4 sesiones de OPU cada 4 días; además, se midieron los siguientes metabolitos: glucosa, triglicéridos, nitrógeno ureico en sangre, colesterol total, colesterol HDL y LDL. El grupo PPG presentó un mayor número de folículos totales ($p < 0,05$) frente al CON; sin embargo, no hubo diferencias significativas ni en el tamaño de folículos ni en la calidad de COC's ($p > 0,05$). Los niveles séricos de glucosa se incrementaron en el grupo PPG ($p < 0,05$) en contraste al grupo CON; el resto de los metabolitos, no fueron diferentes entre tratamientos ($p > 0,05$). En conclusión, la administración oral de propilenglicol a vaquillas aumentó el número de folículos totales a nivel ovárico indistintamente del tamaño de estos.

Palabras clave: balance energético, propilenglicol, reproducción bovina



El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Cuenca ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por la propiedad intelectual y los derechos de autor.

Repositorio Institucional: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/>

Abstract

The energy status modifies the response of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis, a nutritional deficit in the female influences oocyte development, increasing energy in the diet through flushing allows optimizing its performance. The present study evaluated the effect of the administration of propylene glycol as an energy source on the number of follicles and quality of oocytes in crossbred Holstein heifers raised in the high tropics. A total of 12 animals are included, aged between 24 and 32 months, with body condition of 2.5 (rated on a scale of 1 to 5 points); divided into 2 random groups, control (CON=6) and treatment (PPG=6). They were fed under a free-range system; additionally, the PPG group received 309 g of propylene glycol per day orally for 25 days; A heat synchronization protocol was applied: on day 0, an intravaginal device (IVD) for releasing progesterone was placed for 11 days, and on day 2 and 10, a luteolytic dose of PGF₂α was administered., IM. To collect the COC (oocyte cumulus complex) and evaluate its quality, 4 OPU sessions were carried out every 4 days; In addition, the following metabolites were measured: glucose, triglycerides, blood urea nitrogen, total cholesterol, HDL and LDL cholesterol. The PPG group presented a greater number of total follicles ($p < 0.05$) compared to the CON; However, there were no significant differences in either the size of the follicles or the quality of the COCs ($p > 0.05$). Serum glucose levels increased in the PPG group ($p < 0.05$) in contrast to the CON group; The rest of the metabolites were not different between treatments ($p > 0.05$). In conclusion, oral administration of propylene glycol to heifers increased the number of total follicles at the ovarian level regardless of their size.

Keywords: energy balance, propylene glycol, bovine reproduction



The content of this work corresponds to the right of expression of the authors and does not compromise the institutional thinking of the University of Cuenca, nor does it release its responsibility before third parties. The authors assume responsibility for the intellectual property and copyrights.

Institutional Repository: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/>

Índice de contenido

1. Introducción	12
2. Objetivos.....	14
2.1. Objetivo general.....	14
2.2. Objetivos específicos	14
3. Revisión de literatura	15
3.1. Anatomía del aparato reproductor femenino	15
3.1.1. Vulva, vestíbulo y clítoris	15
3.1.2. Ovarios	15
3.1.3. Oviductos o trompas de falopio.....	16
3.1.4. Útero.....	16
3.1.5. Cérvix o cuello uterino	17
3.1.6. Vagina	17
3.2. Fisiología reproductiva de la hembra bovina	17
3.2.1. Pubertad e inicio de la vida reproductiva.....	17
3.2.2. Control neuroendocrino sobre la reproducción y ciclo estral	18
3.2.3. Control metabólico de la reproducción y ciclo estral.....	19
3.2.4. Dinámica folicular	20
3.2.5. Anestro anovulatorio o síndrome de subfertilidad	20
3.3. La energía y su relación con la reproducción	21
3.3.1. Balance energético	21
3.3.2. Balance energético negativo.....	22
3.3.3. Distribución de los nutrientes durante el BEN	24
3.3.4. Alternativas para corregir el BEN en el organismo	25
3.4. Parámetros cuantitativos vinculados con la reproducción	27
3.4.1. Condición corporal.....	27
3.4.2. Peso vivo	28
3.5. Factores metabólicos que afectan la reproducción	28
3.5.1. Glucosa	28
3.5.2. Ácidos grasos no esterificados	29
3.5.3. Ácido betahidroxibutirato	30
3.5.4. Ácidos grasos o triglicéridos	30
3.5.5. Colesterol y lipoproteínas VLD y HDL.....	31

3.5.6.	Proteínas	31
3.5.7.	Nitrógeno ureico	32
3.6.	Factores hormonales que afectan la reproducción.....	32
3.6.1.	Eje gonadotrópico	32
3.6.2.	Eje somatotrófico	34
3.6.3.	Insulina	35
3.6.4.	Factor de crecimiento similar a la insulina.....	36
3.6.5.	Leptina.....	38
3.6.6.	Adiponectina, grelina y neuropéptido Y.....	38
3.6.7.	Estrógenos y progesterona	39
3.6.8.	Otros factores que controlan la reproducción.....	39
3.7.	Aplicación de la ultrasonografía en la reproducción animal.....	40
3.7.1.	Recuento de folículos antrales.....	40
3.7.2.	Evaluación de la calidad de los ovocitos	40
3.7.3.	Aspiración folicular guiada por ultrasonografía.....	40
4.	Materiales y métodos.....	42
4.1.	Materiales	42
4.1.1.	Biológicos	42
4.1.2.	Químicos	42
4.1.3.	Físicos	42
4.2.	Métodos.....	43
4.2.1.	Área de estudio.....	43
4.2.2.	Diseño experimental	44
4.2.3.	Valoración de los folículos a través de ultrasonografía	46
4.2.4.	Análisis de los niveles plasmáticos de metabolitos	46
4.2.5.	Preparación de animales para las sesiones de aspiración folicular.....	47
4.2.6.	Valoración y clasificación de los complejos cúmulo ovocito	47
4.2.7.	Análisis estadístico	49
5.	Resultados.....	50
5.1.	Efecto de la administración de propilenglicol sobre el número total de folículos....	50
5.2.	Efecto de la administración de propilenglicol sobre el número de folículos puncionados y la cantidad y tipo de complejo cúmulo – ovocito (COC)	52
5.3.	Efecto de la administración de propilenglicol sobre los cambios del perfil metabólico a través del periodo de estudio.....	53
6.	Discusión	56

UCUENCA

6

7. Conclusiones	63
8. Referencias.....	64
9. Anexos.....	74

Índice de Figuras

Figura 1: Ubicación geográfica “Granja Irquis” de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca. Tomado de Google Earth (2020).	43
Figura 2: a: Protocolo de sincronización de celo de las vaconas de ambos grupos (PPG y CON) y protocolo de las sesiones de OPU de ambos grupos (PPG y CON); b: Protocolo de extracción de sangre de la vena coccígea de las vaconas del grupo PPG y CON. T0: antes de la administración; T1: después de una hora; T2: después de dos horas de la administración de propilenglicol en el grupo PPG y agua en el grupo CON.	45
Figura 3: Clasificación de los COC´s; Tipo A (I), Tipo B (II), Tipo C (III) y Tipo D (IV).	48
Figura 4: Número de folículos categorizados en diferentes tamaños: 2 – 5 mm (panel A), 5 – 8 mm (panel B) y > 8 mm (panel C) y folículos totales (panel D), al inicio del experimento y en cada sesión de OPU en vaquillas que recibieron propilenglicol (línea negra) o agua (control; línea punteada) a través del periodo de estudio.....	50
Figura 5: Número de folículos de diferentes tamaños y folículos totales en cada sesión de OPU en vaquillas que recibieron propilenglicol (barras negras) o agua (control; barras blancas) a través del periodo de estudio.	51
Figura 6: Número de folículos puncionados (Panel A), cantidad de COC´s obtenidos (Panel B), porcentaje de recuperación de COC´s (Panel C) y tipos de COC´s (Panel D) obtenidos al finalizar todas las sesiones de OPU en vaquillas que recibieron propilenglicol (barras negras) o agua (control; barras blancas) a través del periodo de estudio.	53
Figura 7: Concentración plasmática de glucosa (mg/dl) en vaquillas que recibieron una dosis de propilenglicol (línea negra) o agua (control; línea punteada) a través del periodo de estudio.....	53
Figura 8: Concentración plasmática de: colesterol HDL (panel A, B y C; mg/dl); colesterol LDL (panel D, E y F; mg/dl) y colesterol total (panel G, H e I; mg/dl) en vaquillas que recibieron una dosis de propilenglicol (línea negra) o agua (control; línea punteada) a través del periodo de estudio..	54
Figura 9: Concentración plasmática de: triglicéridos (panel A, B y C; mg/dl) y de nitrógeno ureico (panel D, E y F; mg/dl) en vaquillas que recibieron una dosis de propilenglicol (línea negra) o agua (control; línea punteada) a través del periodo de estudio.	55

Dedicatorias

Este trabajo de investigación final se la dedico primordialmente a mi Dios, quien más que él sabe todo el sacrificio que he puesto en no desmayar en mis estudios, regalándome la fuerza y valentía para poder afrontar cada situación y adversidad presente a lo largo de mi carrera con gran humildad y sencillez en el intento.

A mi madrecita Roció, quien ha sido el pilar fundamental en nuestra familia, una mujer aguerrida la cual ha sabido llenarme de valores, recalcándome siempre la belleza de su humanidad. Para mi padre y hermanas que gracias a su apoyo han permitido mi futura titulación; cada uno de sus consejos y palabras han sabido formar mi carácter, decisión y guiarme por el sendero correcto de esta compleja etapa de mi vida.

Allauca Auqui Kevin M.

Este trabajo lo dedico con gran orgullo a mi familia y amigos que siempre me apoyaron en todos los ámbitos posibles. Esto es gracias a ustedes y espero que todo esto sea de gran satisfacción como lo es para mí.

Largo Pereira Bryan R.

Agradecimientos

Un sincero agradecimiento a todas las personas que siempre apoyaron de manera desinteresada en la ejecución de la presente, como es el caso del Dr. Gonzalo Castro, Dr. Jhonny Narváez, Dr. Pedro Barbecho, Dr. Luis Ayala, Dr. Fernando Perea, Dr. Andrés Galarza, Dr. Mauricio Dumas, Dr. Guido Bermúdez, Dr. Xavier Samaniego, y de manera especial al Dr. Jaime Loja y al Dr. Carlos Ortuño.

Nuestra gratitud al tutor de tesis el Dr. José Luis Pesantez Pacheco por sus sabias enseñanzas dentro y fuera del campo laboral, gracias por su apoyo ilimitado, ideas, consejos y tiempo brindado en la ejecución del presente trabajo. Gracias por siempre mantener su confianza en nosotros y por su paciencia, a pesar de los obstáculos siempre se mantuvo con gran empeño y tenacidad.

Un agradecimiento sincero a Henry Pérez, por ese apoyo en la elaboración de este trabajo investigativo, te deseamos éxitos, esperando que te conviertas en un gran profesional. Además, un agradecimiento muy especial al Dr. Cristhian Rodríguez, Dra. Viviana Chimbo y a la Dra. Maritza Sarmiento por su colaboración infinita en la ejecución de la presente investigación.

Por ultimo y no menos importante, agradecer a nuestras familias por todo su apoyo, aliento, esfuerzo y dedicación que han puesto en nuestra merced, gracias por siempre confiar en nosotros, esto es gracias a ustedes.

Allauca Auqui Kevin M. - Largo Pereira Bryan R.

Abreviaturas utilizadas

PPG: Propilenglicol.

E₂: Estrógenos.

P₄: Progesterona.

PGF2 α : Prostaglandina F2-alfa.

GnRH: Hormona gonadotropina.

FSH: Hormona foliculoestimulante.

LH: Hormona luteinizante.

AGV: Ácidos grasos volátiles.

NEFA: Ácidos grasos no esterificados.

BHB: Ácido betahidroxibutirato.

IGF: Factor de crecimiento similar a la insulina.

IGF-1: Factor de crecimiento similar a la insulina I.

IGF-2: Factor de crecimiento similar a la insulina II.

GH: Somatotropina u hormona de crecimiento.

NPY: Neuropeptido Y.

C-KIT: Receptor de la tirosina quinasa.

BMP-15: Proteína morfogénica ósea 15.

VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular.

NGF: Factor de crecimiento neural.

GDF-9: Factor de crecimiento y diferenciación 9.

TGF- β : Factor de crecimiento beta.

bFGF: Factor básico de crecimiento de fibroblastos.

MS: Materia seca.

TMR: Ración totalmente mezclada.

FD: Folículo dominante.

CL: Cuerpo lúteo.

TAG: Triglicéridos.

BUN: Nitrógeno ureico en sangre.

COL. HDL: Lipoproteínas de alta densidad.

COL. LDL: Lipoproteínas de baja densidad.

COL. TOTAL: Colesterol total.

BE: Balance energético.

BEN: Balance energético negativo.

OPU: *Ovum pick up* o aspiración guiada por ultrasonografía.

RFA: Recuento de folículos antrales.

ROS: Especies reactivas de oxígeno.

COC´S: Complejo cúmulos-ovocito.

DIV: Dispositivo intravaginal.

PV: Peso vivo.

CC: Condición corporal.

CNF: Carbohidratos no fibrosos.

MIV: Maduración *in vitro*.

TLR: Receptores tipo Toll.

1. Introducción

El déficit nutricional en vaquillas influye sobre los índices reproductivos, ocasionando un retraso en el inicio de la ciclicidad ovárica en vaquillas, lo que conlleva a pérdidas económicas por aumento en los costos de alimentación (Bindari et al., 2013). La madurez sexual implica cambios hormonales, especialmente en la función del eje hipotálamo–hipofisiario–gonadal; durante el estado prepuberal, la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) proviene del centro tónico. Esta forma de secreción provoca que los folículos crezcan, pero que no lleguen a tener un tamaño suficiente para ser considerado como folículo preovulatorio (>15 mm) (Balarezo-Urresta et al., 2020). Esto indica que el inicio de la pubertad no es limitado por la actividad potencial de las gónadas o de la hipófisis, sino que, el factor restrictivo es la incapacidad del hipotálamo para producir un patrón de secreción de GnRH adecuado (Bindari et al., 2013).

Cuando existe una alimentación con déficit energético en las hembras, las concentraciones hormonales son bajas porque el sistema que gobierna la secreción de GnRH es muy sensible al efecto inhibitorio de los estrógenos (E_2); considerando que, el sistema que controla la secreción de GnRH no solo es sensible al efecto inhibitorio de los E_2 , sino que también es regulado por señales metabólicas como: leptina, factor de crecimiento similar a la insulina I (IGF-1), hormona de crecimiento, insulina, etc. (Kaewlamun et al., 2020). Al recibir las señales metabólicas indicadoras de madurez el regulador hipotalámico de pulsos aumenta la liberación pulsátil y con ello la de hormona luteinizante (LH). El aumento de la pulsatilidad de LH inicia el desarrollo acelerado de los folículos, de los cuales uno se hace dominante, y con ello provoca la primera ovulación (Falls, 2012).

El nivel y calidad energética brindada durante la fase de crecimiento del individuo influye sobre el desarrollo de las estructuras anatómicas del aparato reproductor; además, controla y regula su funcionamiento. Una mala alimentación desencadena diversas reacciones como: incremento de la lipólisis, disminución de la lipogénesis, incremento de la gluconeogénesis, aumento de la glucogenólisis, disminución del uso de glucosa e incremento en el uso (movilización) de lípidos como una fuente energética (Sierra, 2016). Como consecuencia de la subalimentación se compromete la dinámica y crecimiento folicular, número de folículos, diámetro de los folículos dominantes, cantidad de progesterona producida por el cuerpo lúteo, y se incrementa el periodo parto-primera ovulación (Bindari et al., 2013).

Los rumiantes mantienen la gluconeogénesis permanente a nivel hepático con el fin de transformar a glucosa los ácidos grasos volátiles (AGV) producidos en el rumen; el 85% de glucosa proviene de los AGV, principalmente ácido propiónico. Durante el déficit energético se liberan los ácidos grasos no esterificados (NEFA) y ácido betahidroxibutirato (BHB) que son utilizados como precursores para sintetizar glucosa (Velasco. H, 2020); por lo tanto, se da prioridad a algunos tejidos para la asimilación de glucosa y a otros se les restringe su uso, generando resistencia a la insulina y provocando un estado hipoglucémico que repercute sobre las funciones reproductivas (J. E. P. Santos et al., 2008). Para la secreción de GnRH se necesitan niveles adecuados de aminoácidos y también se requiere glucosa, y al no tener una fuente energética constante se utiliza los NEFA y BHB, lo cual ocasiona que disminuya la viabilidad de los ovocitos y que tampoco exista suficiente IGF-1, lo cual es indispensable para el desarrollo de los folículos y ovocitos (J. E. P. Santos et al., 2008).

En consecuencia, un buen estado metabólico no solo es indispensable para el establecimiento de la función reproductiva, sino también para mejorar el ambiente en el que se desarrolla el ovocito. Considerando que existen varias alternativas para corregir los problemas de desbalance nutricional, una de ellas es incluir una dieta alta en energía durante un corto periodo de tiempo (*Flushing*). Al proporcionar suplementos energéticos a base de alcoholes, como el propilenglicol, se ocasiona el incremento de los niveles de IGF-1, insulina y glucosa en el animal (Chibisa et al., 2008).

Desde 1950 el uso de propilenglicol (PPG) como suplemento glucogénico se ha convertido en una práctica común hasta la actualidad. Estudios demuestran (Webb et al., 2016) que el PPG ocasiona un incremento de los niveles plasmáticos de glucosa e insulina, además aumenta la secreción de mecanismos de señalización para el folículo (IGF-1, inhibina-activina, TGF-B, factores de crecimiento de fibroblastos ó FGF y la hormona antimulleriana ó AMH) y ovocito (factor de diferenciación de crecimiento, BMP-15 y BMP-6) que regulan la función reproductiva; por lo tanto, proveer este aditivo energético mejora la función ovárica y ovocitaria (Webb et al., 2016).

Se ha aplicado PPG en intervalos de 14 a 21 días, y dosis de 300 a 450 ml a vacas postparto, determinando que la dosificación entre estos valores en sí no representa diferencia alguna, ya que el efecto es el mismo sobre la calidad de ovocitos y folículos. El uso de PPG a corto plazo produce un aumento de biomarcadores, en especial de insulina que ayuda a aumentar el número de folículos en la fase de reclutamiento (Gamarra et al., 2014).

2. Objetivos

2.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de la administración de propilenglicol sobre la respuesta ovárica (folículos y ovocitos) en vaquillas Holstein mestizas criadas en el trópico alto.

2.2. Objetivos específicos

- Registrar el número y tamaño de folículos mediante ultrasonografía en vaquillas suplementadas con propilenglicol.
- Valorar la calidad de los COC's recuperados por OPU de vaquillas suplementadas con propilenglicol a través de la clasificación de las características morfológicas.

3. Revisión de literatura

3.1. Anatomía del aparato reproductor femenino

El aparato reproductor de la hembra bovina está conformado por genitales externos: vulva, vestíbulo, clítoris; y genitales internos: ovarios, oviductos o trompas de falopio, útero, cérvix y vagina. Los genitales internos están sostenidos por el ligamento ancho que se inserta en la región dorsolateral del íleon, formado a partir del peritoneo y comprende diferentes regiones: mesovario, que sostiene el ovario; mesosálpinx, que soporta el oviducto; y mesometrio, que sostiene el útero. El ligamento ancho hace que el útero adopte una posición con convexidad dorsal y permite que el aparato reproductor tenga libertad para moverse en la cavidad pélvica y/o abdominal. Los órganos genitales comprenden cuatro túnicas las cuales se denominan de adentro hacia fuera: mucosa, submucosa, muscular y serosa. En el útero adoptan una estructura conocida como: endometrio (mucosa y submucosa); miometrio (muscular) y perimetrio (serosa) (Andr & Herrera, 2022).

3.1.1. Vulva, vestíbulo y clítoris

La vulva es la parte más externa conformada por labios vulvares derecho e izquierdo, los cuales miden aproximadamente 12 cm de longitud. Sus funciones son: dejar pasar la orina (micción), abrirse para permitir la cópula y servir como una salida del canal del parto (Mariela, 2014). Tiene dos comisuras (dorsal y ventral), en la comisura ventral se encuentra el clítoris (fosa del clítoris), que es el homólogo del pene en el macho. La vulva tiene la función de aislar la vagina del exterior, se encuentra verticalmente y sus labios se encuentran fusionados con un aspecto arrugado con piel gruesa (Mariela, 2014). El vestíbulo mide entre 10 a 12,5 cm de largo, su músculo le permite actuar como un esfínter aislando el canal genital del exterior. La unión de la vagina con el vestíbulo forma el “himen vestigial”, donde se ubican las glándulas de Bartolini, encargadas de secretar una sustancia viscosa. El clítoris se ubica en a la región caudal a la comisura ventral del vestíbulo y mide entre 5 a 10 cm (Andr & Herrera, 2022).

3.1.2. Ovarios

Los ovarios son los encargados de producir gametos (función exocrina) y secretar hormonas (función endócrina), estas son las encargadas de regular la función sexual (dinamia folicular y ciclo estral). Los ovarios se encuentran en la parte más caudal del abdomen cerca del reborde pélvico (pubis), tienen forma ovoide y su superficie es irregular debido a los cambios hormonales que atraviesan a lo largo de su vida reproductiva (Andr & Herrera, 2022).

Los ovarios miden de 3,5 a 4 cm de largo x 2,5 cm de ancho y 1,5 cm de espesor, pesan de 15 a 20 g. Cada ovario tiene 2 polos (medial y lateral), 2 caras (anterior y posterior) y 2 bordes (dorsal o libre y ventral o de inserción) (Pariani, 2016). El ovario está constituido por una parte interna o médula y una externa llamada corteza, recubierto de una capa densa y fina de tejido conjuntivo llamada albugínea del ovario, bajo esta capa se encuentra el parénquima ovárico o capa funcional llena de folículos (llenos de líquido) que están constituidos por células de la teca (interna y externa) y granulosa, las cuales rodean al ovocito (Pariani, 2016); también se encuentran, cuerpos amarillos conocidos como cuerpo lúteo, estructuras derivadas del folículo que ovuló (se reabsorbe si no hay fecundación del óvulo) (Andr & Herrera, 2022).

3.1.3. Oviductos o trompas de falopio

También llamado salpínges, es una estructura tubular (20 a 35 cm de largo x 2 a 4 mm de ancho) que mantiene comunicación entre el ovario y el útero conformada por dos aberturas, una anterior o abdominal y una posterior o uterina, y diferentes porciones: infundíbulo, ampulla o ampolla e istmo, sus funciones son transportar ovocitos y espermatozoides, además proveer el sitio propicio para que se dé la fecundación (unión ovocito-espermatozoide) (Pariani, 2016).

El infundíbulo es la parte externa que rodea como embudo al ovario, su borde presenta proyecciones filiformes que constituyen la fimbria y la apertura se denomina "ostium", es el encargado de recibir el ovocito cuando es expulsado del ovario. El ampulla es la porción más alta y cercana al ovario, su diámetro es el más grande que la primera porción y es donde se da la fecundación debido a una señal química que liberan los espermatozoides. Finalmente, el istmo es la porción más baja cercana al útero, se conecta al cuerno uterino y sirve como reservorio de las células germinales masculinas (espermatozoides) que se adhieren a sus paredes (Andr & Herrera, 2022).

3.1.4. Útero

El útero está ubicado en la cavidad abdominal en hembras adultas y en el piso pelviano en nulíparas, consta de cuerpo, cuello y dos cuernos (derecho e izquierdo). El cuerpo mide de 3 a 4 cm y los cuernos entre 35 a 40 cm con un diámetro de 1,25 a 5 cm. Los cuernos son producto de una bifurcación del cuerpo, en su interior está cubierto de una membrana mucosa conocida como endometrio con abundantes glándulas simples, aquí se observan unas proyecciones circulares denominadas carúnculas uterinas y es donde se fijan los cotiledones de las membranas fetales durante la gestación y forman los placentomas (unión carúncula-cotiledón) (Pariani, 2016).

El útero cumple varias funciones, tales como: regular la vida útil del cuerpo lúteo a través de la secreción de prostaglandina, transportar los espermatozoides hacia el sitio de fecundación y capacitarlos para la fecundación, absorción y fagocitosis, promueve el ambiente óptimo para el desarrollo del embrión y crecimiento del feto, además genera contracciones en el momento del parto para ayudar a la expulsión del feto y membranas fetales (Andr & Herrera, 2022).

3.1.5. Cérvix o cuello uterino

Es la parte más caudal del útero, tiene de 8 a 10 cm de longitud x 1,5 a 2 cm de diámetro y comunica el cuerpo uterino con la vagina a través del canal cervical. Es una estructura de tipo cilíndrica ubicada sobre el piso pélvico con bordes transversales o espirales alternados llamados anillos (generalmente son tres), son pliegues cartilagosos circulares que representan el segundo obstáculo para la inseminación artificial al dar o quitar el acceso al útero. El epitelio interno del cérvix produce una secreción mucosa que en el celo es fluida; mientras que, en la gestación se hace más densa formando un tapón denominado tapón de Wharton. Entre sus funciones está facilitar el transporte de los espermatozoides hacia la luz del útero, actúa como reservorio de espermatozoides y durante el celo la musculatura lisa se relaja bajo la influencia de los estrógenos (Andr & Herrera, 2022).

3.1.6. Vagina

Es una estructura tubular fibroelástica con pliegues longitudinales internos, durante el coito proporciona el paso a los espermatozoides al canal cervical, durante el parto permite la salida del feto gracias a su gran capacidad de expansión. Ubicada horizontalmente y paralela al recto por encima de la vejiga, mide de 25 a 30 cm de largo, las paredes segregan una sustancia lubricante durante el parto y en los periodos de celo o calor (Sequeira, 2013).

3.2. Fisiología reproductiva de la hembra bovina

3.2.1. Pubertad e inicio de la vida reproductiva

La cantidad de energía que consume el animal influye sobre el periodo prepuberal, inicio de la pubertad, reinicio de la actividad folicular ovárica y también antes y después del parto. Todo excedente energético que el animal pueda consumir lo almacena en sus reservas corporales y esto el organismo lo traduce con un aumento en la condición corporal. Se ha observado que los animales que tienen una mayor condición corporal tienen aproximadamente 30% más tasas de preñez a diferencia de animales que tienen una condición corporal menor (Bloom & Reenen, 2013).

En el caso de vaquillas (núlparas) se debe guardar una adecuada relación de energía y proteína considerando que, además de cumplir con los procesos reproductivos todavía se mantienen en constante crecimiento y su demanda es aún más grande que las múltiparas. Por lo tanto; el performance productivo y reproductivo, depende del peso vivo, tasa de crecimiento, porcentaje grasa (reservas) y relación de grasa - proteína corporal, todo esto se refleja en la condición corporal del animal (Sierra, 2016).

3.2.2. Control neuroendocrino sobre la reproducción y ciclo estral

El sistema endócrino está integrado en el organismo con la capacidad de regular el metabolismo, crecimiento, reproducción, respuesta al estrés y otras funciones. Libera hormonas a la circulación sistémica para poder comunicarse con los tejidos y esto facilita que actúe sobre las células blanco (órgano diana). En el sistema endócrino encontramos agrupaciones de células epiteliales que forman las glándulas. El sistema endócrino desempeña un papel fundamental en la integración y desarrollo del organismo ante las etapas de inicio, crecimiento y mantenimiento de las actividades reproductivas y metabólicas, además interactúa sobre las repuestas conductuales ante las diversas alteraciones que se dan en el medio interno y externo (Bloom & Reenen, 2013).

El sistema endócrino actúa como un sensor metabólico, sus hormonas sirven como señalizadores al tener la capacidad de llevar la información del estado nutricional al eje hipotálamo-hipófisis-gónada. En el control reproductivo las hormonas tienen efectos sobre el ovario, folículos, ovocitos y embrión; son capaces de, modificar el crecimiento y desarrollo folicular e interferir en la insulínogénesis. Las hembras que no están en lactancia (núlparas), no tienen una alta capacidad hepática para metabolizar las hormonas metabólicas reproductivas (esteroides), y más aún cuando las dietas están con elevado contenido proteico y no energético (Bloom & Reenen, 2013).

El sistema endócrino mantiene el control entre la tasa metabólica y el balance energético, de este depende que se puedan enviar las señales de las concentraciones circulantes de hormonas hacia las neuronas a nivel nervioso. El sistema endócrino es regulado por el sistema nervioso central (SNC) y este a su vez es controlado por señales externas que recibe el animal y por mecanismos internos del individuo, siendo afectado mutuamente cuando se produce una alteración en cualquiera de los sistemas, y más aún cuando se perturba el metabolismo como consecuencia de una alteración en la homeostasis (Bloom & Reenen, 2013).

3.2.3. Control metabólico de la reproducción y ciclo estral

Una adecuada nutrición garantiza estabilidad en el metabolismo del animal y este se refleja en el performance del individuo, esto ayuda a que en una determinada edad el animal al alcanzar la pubertad pueda llegar a ser muy eficiente; en otras palabras, la estabilidad metabólica está condicionada por el nivel o calidad nutricional que se emplee en los animales durante la etapa de levante (núlparas) (Bloom & Reenen, 2013).

Una mala nutrición provoca alteraciones en el metabolismo hepático, observándose ovulaciones múltiples al eclosionar folículos que están en subdesarrollo, hay disminución de las concentraciones de estradiol (E_2) y progesterona (P_4). Cuando se da un aporte exagerado de energía se produce una esteatosis hepática con hepatolipidosis distrófica que influye directamente sobre la fertilidad (Bloom & Reenen, 2013). En la hepatolipidosis distrófica el sistema microsomal del hepatocito se encuentra inhabilitado por catabolizar 17-beta-estradiol (déficit de estrinasa hepática), desencadenando los síndromes hiperestrogénicos (celos largos, celos anovulatorios, abortos); es decir, cuando la dieta (exceso) en lugar de corregir el déficit nutricional, exacerba el problema generando una acción contraria sobre el sistema endócrino reproductivo (Castañeda et al., 2005).

Para evitar el riesgo de generar problemas metabólicos se debe mantener un consumo óptimo de materia seca (MS). Las vacas y vaquillas son sensibles al aumento o disminución del consumo de MS; a pesar de tener un crecimiento morfológico similar, existen diferencias en el desarrollo embrionario debido a patrones metabólicos y hormonales; es decir, muchas de las biosíntesis son más activas en embriones de novillas que en los de vacas (Granja, S. et al., 2012). Una restricción alimenticia en la etapa previa a dar servicio compromete el performance del individuo porque no cuenta con sus requerimientos nutricionales suplidos y compromete el desarrollo, competencia y calidad de los ovocitos (Granja, S. et al., 2012).

Las concentraciones de hormonas folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH), insulina, factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1), leptina, somatotropina (GH), NEFA, BHB y glucocorticoides se ven alteradas en un desbalance nutricional, estas hormonas y factores metabólicos asociados al rendimiento, desarrollo y funcionamiento de la parte reproductiva inhiben sus funciones en el organismo. Un desbalance nutricional además de afectar negativamente la función hormonal e influir sobre el inicio de la actividad folicular ovárica de vaquillas, también lo hace sobre la reanudación de la ciclicidad de vacas postparto (Lagos, 2019).

3.2.4. Dinámica folicular

Este proceso biológico se produce en el ovario con la finalidad de formar un folículo competente, dominante y ovulatorio. Este crecimiento folicular ocurre en ondas que por lo general son 2 (a veces 3) durante todo el ciclo estral. Cada onda se inicia con el reclutamiento de pequeños folículos antrales (2 a 4 mm) los cuales crecen, son seleccionados y adquieren dominancia, alcanzando un diámetro marcadamente superior que regula el crecimiento de los folículos subordinados (Sarmiento & Naulaguari, 2019).

El folículo dominante (FD) de la última onda folicular ovula y se observa un crecimiento secuencial de ciertos folículos y la regresión de otros. Durante el reclutamiento (aparición) una cohorte (grupo) de pequeños folículos antrales empiezan a crecer (emerge); se conoce que, en los bovinos, la mayoría de los folículos reclutados sufren atresia (Andr & Herrera, 2022). Estos folículos antrales están bajo la influencia de GnRH y tienen un diámetro de 2 a 4 mm (Sarmiento & Naulaguari, 2019). Un grupo de folículos son seleccionados y continúan su desarrollo hasta convertirse en dominantes, las vacas al ser monotocas solo uno será un FD, que al mismo tiempo secreta estradiol e inhibina. En esta fase los niveles de E_2 se incrementan y aumentan la amplitud en los pulsos de la hormona luteinizante (LH), hay ausencia de la inhibina y presencia de IGF-1 y activina (Sarmiento & Naulaguari, 2019).

En la desviación se inhibe la hormona foliculoestimulante (FSH), el FD adquiere receptores para LH más que los folículos subordinados, es por eso que continúa creciendo (Andr & Herrera, 2022). En la dominancia existe un folículo grande preovulatorio con aproximadamente 10 mm de diámetro, ejerce un efecto inhibitorio en los demás folículos antrales y sobre la nueva cohorte para que no se genere. El FD llega a ovular gracias a los picos de LH; sin embargo, no debe existir la presencia del cuerpo lúteo (CL) porque se produce la atresia del folículo al liberarse progesterona (P_4). El proceso de atresia comprende la regresión de más del 90% de los folículos reclutados y seleccionados, este proceso degenerativo es irreversible (Sarmiento & Naulaguari, 2019).

3.2.5. Anestro anovulatorio o síndrome de subfertilidad

El anestro anovulatorio es conocido por tener cambios fisiológicos y se caracteriza por estar inhibida la liberación de pulsos de la hormona GnRH a la circulación hipofisaria, como consecuencia de ello se dan variaciones en la frecuencia de liberación de pulsos que así mismo regula la liberación de la FSH y LH. El anestro no se debe a la falta de folículos dominantes, sino a la falla para ovular, esto es por una baja en la velocidad de síntesis y magnitud de la LH para inducir la maduración folicular y ovulación (Velasco. H, 2020).

Cuando el organismo cae en un estado deficiente de energía los mecanismos de regulación recurren a la movilización de las reservas corporales para mantener su funcionamiento, se liberan ácidos grasos no esterificados (NEFA) que llegan al hígado y se convierten en triglicéridos (TAG). Al generarse una oxidación parcial de los NEFA y al estar acompañado de niveles bajos de glucosa sanguínea se convierten en cuerpos cetónicos, principalmente ácido betahidroxibutirato (BHB) debido al déficit de oxalacetato en el ciclo de Krebs, y esto se asocia a una mayor infertilidad (Velasco. H, 2020).

Las hormonas se forman a partir de ésteres y triglicéridos, metabolitos que provienen de los lípidos de la dieta y que son esenciales para formar las bases de las hormonas, al no tener reservas corporales (grasa) el animal permanece en anestro hasta que se corrija el balance energético. Al estar el animal en un desbalance nutricional se produce pérdida de peso y condición corporal, que influyen sobre la reproducción y esto denota cambios en las concentraciones séricas de las hormonas encargadas de mantener el control metabólico y reproductivo en el organismo del animal (Velasco. H, 2020).

3.3. La energía y su relación con la reproducción

3.3.1. Balance energético

El balance energético (BE) del animal tiene una relación directamente proporcional al contenido de energía de la dieta, es un factor determinante del metabolismo energético del organismo e interfiere sobre las funciones endócrinas y metabólicas. Una ración con bajos niveles de energía que sea administrada al animal ejerce efectos negativos sobre el sistema de comunicación neurohormonal encargado de regular las funciones sexuales antes y después de la madurez sexual (Granja, S. et al., 2012). Dietas deficientes en energía interfieren sobre la pulsatilidad de las hormonas; por lo tanto, la secreción y liberación de la hormona luteinizante (LH) está relacionada directamente con la disponibilidad de energía, y una subdisponibilidad declina la liberación de LH del sistema endocrinológico (Sierra, 2016).

El suministro de energía depende de la oferta forrajera y esta a su vez depende de la ubicación del potrero, precipitaciones, temperatura y suministro de agua, todo esto afecta la calidad del pasto (concentración de sus nutrientes). Pastos con bajo contenido nutricional no cumplen con los requerimientos nutricionales del animal; es decir, la disponibilidad de nutrientes influye sobre el inicio y reinicio de la actividad ovárica (Bloom & Reenen, 2013). Se debe mantener un adecuado equilibrio en el suministro exógeno de energía, un déficit o exceso ocasionan trastornos metabólicos y hormonales en las hembras (Granja, S. et al., 2012).

En un déficit nutricional hay depleción de las reservas corporales, la dinámica folicular tiende a limitarse debido a que el organismo da prioridad a la producción antes que, a la reproducción, causando infertilidad temporal. El estatus energético condiciona el inicio y reanudación del ciclo ovárico en animales de producción, al tener un BE negativo o BEN, el organismo incrementa la lipólisis, glucogénesis, gluconeogénesis, y la dinámica folicular se altera debido a los cambios metabólicos producidos (Hena Restrepo, 2001).

3.3.2. Balance energético negativo

El balance energético negativo (BEN) se refleja producto de una restricción de alimento en el organismo, una deficiencia crónica de nutrientes repercute sobre la reproducción del animal, independientemente de cuál sea el patrón reproductivo; por lo tanto, el efecto de la carencia de energía (ATP) sobre la respuesta ovárica es marcada, se disminuye la cantidad y calidad de ovocitos (Sierra, 2016). Se considera un BEN cuando el desgaste de energía es mayor al que el animal pueda consumir de fuentes exógenas (alimento); es decir, solo energía (carbohidratos), no se considera a las grasas ni a la proteína en este aspecto, pero si son esenciales en la parte endocrinológica para la síntesis de hormonas que son las encargadas de llevar las señales metabólicas al sistema hipotálamo-hipófisis-gónada (Granja, S. et al., 2012).

Durante el BEN los mecanismos homeorréticos permiten al organismo mantenerlo en homeostasis; sin embargo, dan prioridad a los procesos metabólicos y dejan en segundo plano a los procesos reproductivos donde se ve comprometido su crecimiento, desarrollo, mantenimiento y funcionamiento. A medida que la hembra bovina se recupera del BEN, se empieza activar el eje hipotálamo-hipófisis-gónada, esto lo hace un en lapso de 15 días aproximadamente (Sierra, 2016).

La restricción de nutrientes reduce la eficiencia reproductiva de las novillas puesto que se afecta el desarrollo corporal retardando la aparición de la pubertad y más aún, reduce la foliculogénesis declinando el tamaño del folículo dominante y perjudicando la maduración y su capacidad para ovular; esto se debe a, la inhibición de la secreción de la LH, caída de IGF-1 y baja concentración de glucosa en el plasma. El BEN también afecta a las multíparas, retrasa la primera ovulación postparto y al mismo tiempo se da una caída en las concentraciones séricas de progesterona en el segundo y tercer ciclo postparto, lo que afecta el desarrollo folicular, potencial de los ovocitos y supervivencia embrionaria (Velasco. H, 2020).

Como consecuencia de una deficiencia nutricional, el BEN genera cambios metabólicos y endócrinos; resultado de esto, se pierde peso (pérdida de puntos en la condición corporal) generando alteraciones en la homeostasis (Hernández, 2002). Sin embargo; aunque se da la movilización de las reservas, el performance reproductivo del animal no tiene prioridad en la partición de nutrientes. Algunos autores manifiestan que el BEN no afecta directamente la función ovárica, sino que tiene influencia sobre el sistema endócrino el cual regula la función ovárica (Bloom & Reenen, 2013).

Los rumiantes durante el BEN tienen repercusiones en su actividad folicular llegando a tener un menor índice de ovulaciones debido a la caída en la frecuencia de pulsos de LH, esto como resultado de una inadecuada secreción hipotalámica de gonadotropinas (GnRH); provocando, el aumento de folículos pequeños e impidiendo el crecimiento y desarrollo de los folículos grandes (Granja, S. et al., 2012). En animales con baja condición corporal se observa una regresión de la onda folicular, y sin ovulación; en otras palabras, se induce a la hembra a un anestro debido a una insuficiente circulación de LH que inhibe el crecimiento y maduración de los folículos y ovocitos (Bloom & Reenen, 2013).

Una restricción nutricional aguda (12 días) disminuye la tasa de crecimiento y diámetro del folículo dominante, generando su fracaso al impedir su ovulación. El déficit energético afecta la calidad de los ovocitos *in vivo* e *in vitro* afectando el clivaje de los ovocitos recolectados por aspiración folicular u *Ovum Pick Up* (OPU), en otras palabras, el déficit energético afecta a los ovocitos previos a la ovulación y posterior a ella (Bloom & Reenen, 2013). Durante el BEN se da una deficiencia de glucosa plasmática, que al mismo tiempo disminuye los niveles del factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1) e insulina. Todo esto ayuda a que se presente con mayor facilidad una restricción en la secreción de las hormonas FSH y LH, ya que por lo general trabajan de manera de retroalimentación o feedback (Lagos, 2019).

En el BEN se liberan a nivel plasmático NEFA y BHB, junto con otras cetonas comprenden cerca del 78% en sangre que lo que provocan es, exacerbar la respuesta (no hay respuesta) al balance negativo, disminuyendo el consumo de materia seca e influyendo sobre la fertilidad. La disponibilidad de energía tiene un efecto directo sobre las secreciones del endometrio afectando el metabolismo y desarrollo del concepto (Nagwa et al., 2020).

Existe una relación directa del retraso de la ovulación e inicio del desarrollo folicular con la pérdida de peso y condición corporal, y con el incremento de las concentraciones de BHB (Lagos, 2019). Cuando se limita el crecimiento por falta de nutrientes se induce la supresión parcial o total de la actividad reproductiva, cuando el peso cae por debajo de un 20% el animal cesa su actividad reproductiva (Castañeda et al., 2005).

También se ha observado que por cada 10 kg de peso vivo que pierda el animal, se reduce de 0,31 +/- 0,006 mm en el diámetro del folículo dominante. Al restringir el alimento no solo se ve comprometida la tasa de crecimiento y diámetro del folículo, también declina el tamaño del cuerpo lúteo (CL) a igual que su funcionalidad (Castañeda et al., 2005). El BEN reduce la disponibilidad de glucosa a los tejidos, se incrementa la movilización de las reservas del animal y al mismo tiempo el animal le da prioridad al metabolismo basal, entre ellos: la actividad física, crecimiento y lactancia sobre los procesos reproductivos (Ninabanda, 2018).

3.3.3. Distribución de los nutrientes durante el BEN

El mecanismo homeorrético da prioridad a las diferentes funciones cumpliendo una escala de mayor a menor: metabolismo basal, actividad o trabajo, crecimiento, reserva de energía básica, gestación, lactación, reserva de energía adicional, ciclo estral (inicio y reinicio de la actividad folicular ovárica) e inicio de gestación y finalmente reserva de energía en exceso. Las funciones reproductivas se reactivan cuando la demanda de mantenimiento, crecimiento y reserva hayan sido superadas (Granja, S. et al., 2012).

Debido a que la energía que se necesita para que se dé el crecimiento folicular, fertilización del ovocito e implantación del embrión es mínimo comparado al que se necesita para la producción de leche y mantenimiento del organismo, se deduce que no se mitiga la concentración energética para la reproducción, sino el estado energético deficiente repercute sobre la concentración y actividad de metabolitos y hormonas metabólicas implicadas en los procesos de reproducción (Ninabanda, 2018).

El BEN además de tener efectos sobre vaquillas, este también afecta a vacas postparto en especial al inicio de la lactancia disminuyendo la actividad ovárica folicular, dando como resultado que por cada 1,8 Mcal de Energía Neta (EN) perdida, la primera actividad luteal se retrasa 1 día. Existen tejidos que requieren de insulina para captar glucosa (tejidos insulino dependientes) tales como: músculo, ovario e hipotálamo; por lo tanto, la glucosa es muy importante para el metabolismo ovárico (Granja, S. et al., 2012).

Los transportadores de glucosa sensibles a insulina GLUT-1, GLUT-3 y GLUT-4 están presentes en las células de la granulosa y teca; además, el GLUT-4 se encuentra en las células del *cúmulus oophorus* y el ovario; es decir, forzosamente necesita de insulina para su correcto funcionamiento y poder absorber y permitir el paso de la glucosa hacia las células del organismo, de esta forma se garantiza el correcto funcionamiento de los ejes, estructuras y dinámica folicular ovárica de la hembra (Kaewlamun et al., 2020).

3.3.4. Alternativas para corregir el BEN en el organismo

Un desbalance nutricional se puede corregir aplicando un “*flushing*” de tipo energético que proporcione energía rápida al organismo como al suplementar carbohidratos no fibrosos (CNF), que brindan energía de fácil absorción (glucosa) y son altamente fermentables, además se digieren de forma rápida y completa. Estos CNF bien se fermentan a propionato en el rumen o se degradan en el rumen y aporten glucosa directamente a nivel duodenal (Lagos, 2019).

Al administrar dietas que contengan mayor cantidad de compuestos glucogénicos, estos proporcionan mayores cantidades de ácido propiónico al organismo y por ende contribuyen a la gluconeogénesis en el hígado. Otra alternativa eficiente es la administración de propilenglicol (PPG), un alcohol inerte a nivel ruminal que puede ser metabolizado a nivel hepático a piruvato y luego a glucosa (Granja, S. et al., 2012). El PPG por lo general se metaboliza en propionato y luego se convierte en glucosa (vía oxalacetato) para ser absorbido en el rumen, pero también se absorbe a nivel intestinal (paso directo) va al hígado y se convierte en lactato (vía lactaldehído) y posteriormente a glucosa, esta última conversión limita un poco la utilización de la glucosa ya que solo eleva sus niveles en sangre, mas no su utilización (Nagwa et al., 2020). Al utilizar PPG como suplemento glucogénico en la dieta se genera un efecto positivo al controlar el BEN, optimizando los parámetros productivos (leche) y sobre todo mejorando el desempeño reproductivo (Ayoub et al., 2015).

En respuesta al PPG, las concentraciones plasmáticas de glucosa e insulina aumentan a los 60 a 90 minutos de la administración por vía oral del aditivo, pero sus efectos se ven cuando la administración es sostenida. La aplicación de PPG en novillas durante la superovulación mejora la producción de ovocitos grado 1, blastocistos expandidos y embriones después de la recolección de ovocitos (OPU), maduración *in vitro* (MIV), fertilización y cultivo. El PPG también estimula el crecimiento del folículo a través del incremento del IGF-1; además, limita la lipólisis y aumenta las concentraciones de progesterona (Hidalgo et al., 2004).

Existen resultados positivos al administrar 300 ml/día/animal durante un periodo de 21 días (Kaewlamun et al., 2020); mientras que, dosis de 150 ml no producen ninguna diferencia ya que solo incrementan los niveles de insulina y no de glucosa (Rodrigues et al., 2015) y sobre los 500 ml tiende a ser tóxico (Nagwa et al., 2020). El PPG reduce el riesgo de cetosis y esteatosis hepática al disminuir la lipomovilización y al estimular la oxidación de cetonas; además, reduce la producción de ácido palmítico y ceramidas que provocan resistencia a la insulina a nivel ovárico (Kaewlamun et al., 2020). A nivel local aumenta el reclutamiento, crecimiento y diferenciación de folículos y mejora la calidad del ovocito (Aguilar, 2016).

La glucosa es la fuente energética de los ovarios donde a nivel plasmático ejerce un incremento de la insulina y ésta mejora el crecimiento de los folículos (Granja, S. et al., 2012). El suministro de precursores glucogénicos puede minimizar el impacto negativo del consumo reducido de materia seca (déficit nutricional) e impedir la movilización de las reservas corporales, también la densidad energética aumenta a través del consumo de carbohidratos de rápida fermentación o CNF (Lagos, 2019).

Durante la subalimentación se altera el crecimiento y desarrollo folicular que repercute con daños en los ovocitos posterior a la fecundación, aunque se dé el ambiente paracrino ideal estas alteraciones ya marcan una diferencia en la supervivencia del embrión. Para la aplicación del *flushing* se toma en cuenta dosis, tiempo e intervalo de acuerdo a la etapa del individuo, en ovejas la infusión directa de glucosa aumenta la tasa de ovulación, pero la calidad embrionaria se reduce debido a la interacción entre glucosa, insulina y proteínas de transporte durante el desarrollo embrionario temprano (Bloom & Reenen, 2013).

Diversos estudios reportan que administrar altos niveles de glucosa a hembras que están previas a entrar a un programa reproductivo permite al animal alcanzar el peso adecuado para el desarrollo de la concepción posterior al servicio, mejorando las tasas de estro y preñez durante los primeros 20 días de suplementación (Velasco. H, 2020). Sin embargo; el exceso de CNF o suplementos energéticos, genera un aumento no controlado de propionato (agente hipofágico), que estimula las vías oxidativas en los hepatocitos dando saciedad e influyendo sobre el consumo de alimento (J. E. Santos et al., 2010).

3.4. Parámetros cuantitativos vinculados con la reproducción

3.4.1. Condición corporal

La evaluación de la condición corporal (CC) es una estimación visual del desarrollo muscular y del contenido adiposo subcutáneo, donde en base a esta valoración se puede inferir sobre el estado nutricional del animal, se tiene una amplia observación si el animal tiene reservas corporales o carece de ellas (Bloom & Reenen, 2013). La condición corporal nos ayuda a estimar el impacto (amplitud y extensión) del BEN debido a su grado de cercanía con el peso corporal (Paul et al., 2020).

La técnica para medir la condición corporal se basa únicamente en la observación del animal sin la necesidad de recurrir a la palpación. La escala sigue el siguiente orden de valoración: delgado (1); flaco (2); ideal (3); gordo (4) y obeso (5); por lo tanto, la evaluación de la CC prevalece a nivel de campo cuando se decide dar servicio (Paul et al., 2020). Una deficiencia de nutrientes antes que el animal llegue a la pubertad da como resultado animales infértiles, bajo porcentaje (%) de fertilidad, estros silenciosos, baja tasa de concepción o el animal no puede mantener la gestación (aborto), y cuando el animal pierde más de un punto en su CC repercute negativamente al aumentar los días al primer estro (celo), número de servicios por concepción y por lo tanto los días abiertos (Granja, S. et al., 2012).

La CC es un factor determinante del ciclo estral, al momento de que el animal llegue a perder entre el 22 a 24% del peso corporal (reservas o energía almacenada) se afecta el crecimiento folicular e induce a la hembra a presentar anestro anovulatorio, declinando a sí mismo la tasa de concepción (TC) y por ende la tasa de preñez (TP) se ve disminuida. El inicio y reinicio de la actividad ovárica esta correlacionada con la condición corporal, donde una CC superior a 2.5 es la ideal para dar servicio y lograr que la tasa de concepción sea alta (Velasco. H, 2020).

El periodo de transición es fundamental para el desempeño reproductivo al presentarse cambios metabólicos se limita el consumo de alimento o materia seca (MS) llevando el rendimiento del individuo muy por debajo de lo esperado, y es donde se presentan problemas por tratar de priorizar las demás funciones. La suplementación de Energía Metabolizable (EM) a vacas con baja CC reduce las concentraciones de NEFA y BHB a nivel plasmático, también el colesterol en sangre disminuye y la relación albumina/globulina es menor (Lagos, 2019). La pérdida de 1 punto en la CC afecta la tasa de preñez, la pérdida de 1 punto reduce la fertilidad a 50%, 2 puntos a 34% y más de 2 puntos hasta el 21% de fertilidad total de la hembra (Granja, S. et al., 2012).

3.4.2. Peso vivo

El peso vivo (PV) es otro indicador que ayuda a evaluar la calidad nutricional que recibe el individuo, el PV influye sobre los parámetros productivos y reproductivos, nos permite estimar si la dieta cumple con los requerimientos nutricionales de acuerdo a su demanda, y en base al PV el individuo tiende a ser eficiente en sus funciones (Granja, S. et al., 2012). No es aconsejable solo basarse en el PV para evaluar la calidad nutricional, porque este puede variar hasta en un 40% por el enmascaramiento con el llenado corporal, es por eso que va de la mano con la CC (Chagas et al., 2007).

A mayor ganancia de peso se optimiza el desempeño reproductivo, ante un déficit nutricional se emplea dietas glucogénicas (alto en glucosa) para cubrir los requerimientos del animal; sin embargo, existe lo que se denomina “*espacio de variación entre velocidad y tiempo de la ganancia de peso corporal*”; es decir, no es lo mismo en novillas previas al destete que las que fueron destetadas, siendo este menor en las últimas. Al incrementar el PV se incrementa la tasa de ovulación y tamaño de la camada, esto debido al mayor paso de glucosa hacia las células e influye sobre el reclutamiento y crecimiento folicular (Granja, S. et al., 2012).

En definitiva, las restricciones de alimento alteran las características del crecimiento folicular en bovinos y en ovejas mitiga la prolificidad de la camada (Bloom & Reenen, 2013), es por eso que es necesario evaluar el consumo de alimento y la expresión de metabolitos glucogénicos en el plasma sanguíneo, esto nos da una clara idea de cómo es la alimentación en el individuo y posteriormente estimar su rendimiento (Lagos, 2019).

3.5. Factores metabólicos que afectan la reproducción

3.5.1. Glucosa

La glucosa es un metabolito que no solo cumple funciones a nivel sistémico sino, también de manera específica en la parte de la homeorresis de la reproducción. La disminución de los niveles de glucosa a nivel sanguíneo se la conoce como “hipoglucemia”, este estado deficiente de energía inhibe el eje somatotrófico declinando los niveles de somatotropina (GH) y de IGF-1, provocando que se dé una “partición de nutrientes” (Velasco. H, 2020). Cuando el animal entra en hipoglucemia por alteraciones en la insulina, se impacta negativamente la secreción y pulsatilidad de la LH. La glucosa es necesaria para una adecuada maduración del ovocito, ayuda en la expansión de cúmulos, maduración nuclear, división celular y más adelante el desarrollo del blastocisto (Castañeda et al., 2005).

La ciclicidad de la hembra se ve afectada cuando se inhibe la glucólisis porque declina la pulsatilidad de la LH; por lo tanto, la liberación de hormonas gonadotrópicas es dependiente de los cambios de glucosa en el organismo (Velasco. H, 2020). El ovocito no utiliza directamente glucosa como fuente de energía, ésta tiene que estar disponible para las células del cúmulo que por medio de la glicólisis proporcione piruvato y lactato, sustratos preferidos del ovocito para la producción de energía (ATP) (Bisinotto et al., 2012).

3.5.2. Ácidos grasos no esterificados

En la hipoglucemia se movilizan las reservas corporales, se genera gluconeogénesis en el hígado y una lipólisis masiva, se elevan los ácidos grasos no esterificados (NEFA) que sirven como fuente alternativa de energía para los tejidos y esto con lleva a que no requieran necesariamente de glucosa para su funcionamiento; en el caso de las vacas en producción, la ubre si requiere de glucosa para formar lactosa. Los NEFA son ácidos grasos saturados (palmitato, estearato, ácido grasos monoinsaturados, ácido oleico) (Wathes et al., 2013), transportados al hígado donde se oxidan para generar energía o bien para ser transformados en cuerpos cetónicos, de las dos formas en organismo trata de obtener energía como medida alternativa a la falta de glucosa (hipoglucemia) (Velasco. H, 2020).

Los NEFA a nivel plasmático afectan el desarrollo, maduración, criopreservación de los ovocitos, también la calidad y competencia se ve comprometida cuando los NEFA llegan al ovocito, afectando posteriormente su fertilización (Castañeda et al., 2005). La disminución a nivel sanguíneo de la glucosa e insulina combinada con altas concentraciones de NEFA y BHB, y sumado la acumulación de triglicéridos (TAG) en el hígado, inhiben el aumento de los niveles de FSH y LH que son necesarios para el desarrollo de folículos, producción de 17-B-estradiol y la ovulación (Lagos, 2019). Los NEFA tienen efectos detrimentales sobre la viabilidad de las células foliculares y provocan que su función se cohíba (Velasco. H, 2020).

El sistema endócrino es altamente sensible a una sobrecarga de NEFA, no ejercen una acción directamente a nivel cortical, pero aumentan la carga de energía del hígado lo cual lleva al animal a reducir la ingesta de alimento. El aumento de NEFA no indica una lipólisis excesiva, indica un balance energético negativo a corto plazo y un catabolismo del tejido adiposo (Ayoub et al., 2015). Vacas y vaquillas con concentraciones superiores de 1 mM de NEFA y con extensa movilización de lípidos, su hígado es capaz de eliminar hasta 2 kg de NEFA por día equivalente al 20% de su peso (Bisinotto et al., 2012). Por otro lado, al elevarse los NEFA en sangre se incrementa la expresión de citocinas y receptores tipo Toll (TLR) de la inflamación, que conducen a alteraciones en las funciones uterinas (Sammad et al., 2022).

3.5.3. Ácido betahidroxibutirato

El déficit energético además de incrementar los NEFA aumenta los niveles de ácido betahidroxibutirato (BHB) que eleva los niveles de progesterona durante el estro. Este aumento de BHB y pérdida de la CC se debe a un BEN prolongado, lo cual conduce a la declinación en la viabilidad de los ovocitos al perjudicar el desarrollo folicular y potencial del ovocito. Los NEFA y BHB a nivel sanguíneo tienen un efecto negativo en la fisiología del ovario, folículo y del embrión (Chagas et al., 2007).

Es muy importante corregir a tiempo el BEN en un hato ganadero, ya que una excesiva movilización de reservas también conduce a un incremento de los niveles prepañales tanto de ácidos grasos no esterificados como de ácido betahidroxibutirato; por lo tanto, se los puede usar como indicadores para determinar la pérdida real de lípidos corporales (Lagos, 2019).

3.5.4. Ácidos grasos o triglicéridos

Los ácidos grasos y colesterol cumplen un rol importante al servir como sustratos para la síntesis de hormonas y prostaglandinas que actúan directamente sobre el eje hipofisiario cuyo efecto es dependiente a la disponibilidad de energía en la dieta. Al administrar dietas altas en grasas en vacas y novillas se aumentan los niveles de progesterona, dando como resultando mayor persistencia del cuerpo lúteo y favorecen el crecimiento folicular. Este crecimiento folicular está acompañado de altas concentraciones de estrógenos (Lagos, 2019).

Al aumentar los NEFA se presenta cetosis y esteatosis hepática porque se produce una lipólisis excesiva y excede la capacidad oxidativa del hígado, resulta en una acumulación de triglicéridos (TAG) y se reduce la capacidad glucogénica de los hepatocitos para sintetizar glucosa a partir de propionato (Castañeda-Gutiérrez et al., 2009). La acumulación de TAG causa daño físico a los hepatocitos provocando apoptosis a través del estrés del retículo endoplasmático (Kaewlamun et al., 2020) y daño en las membranas mitocondriales (Wathes et al., 2013). Cerca del 95% del volumen del tejido adiposo está compuesta de TAG almacenados dentro de gotas de lípidos con un núcleo lipídico neutro y una monocapa externa de fosfolípidos. El tejido adiposo secreta adipocinas como leptina, resistina, factor de necrosis tumoral (TNF), interleucina 6 (IL-6), que envían señales al cerebro y a los tejidos periféricos y contribuyen en el control de la homeostasis energética (Wathes et al., 2013).

Al disminuir la glucosa e insulina se activan las señales lipolíticas que hidrolizan a los TAG almacenados y aumentan la disponibilidad de los NEFA (fuente de energía). La oxidación parcial de los TAG aumenta la concentración y duración de las concentraciones de BHB y NEFA; es decir, por cada 100 μM que aumente en la concentración, disminuye 2 a 3% la tasa de concepción. La extensa lipólisis es perjudicial para la competencia del ovocito y del desarrollo del embrión (Bisinotto et al., 2012). Los NEFA se transportan desde el tejido adiposo mediante la proteína transportadora de ácidos grasos 4 (FABP4) y en la sangre por la albúmina (Wathes et al., 2013).

3.5.5. Colesterol y lipoproteínas VLD y HDL

Los niveles de colesterol se ven reducidos cuando existe una deficiencia de nutrientes y energía; mientras que, los niveles de colesterol total, fosfolípidos, triglicéridos, lipo-proteína-colesterol de muy baja densidad (VLDL-C), lipoproteína-colesterol de baja densidad (LDL-C) aumentan y la lipoproteína-colesterol de alta densidad (HDL-C) también baja. La disponibilidad de colesterol es fundamental para el crecimiento del FD, también ayuda a mantener la gestación y preparar el útero para la implantación del embrión respectivamente (Lagos, 2019). La mayoría de los NEFA que llegan al hígado se oxidan a BHB (parcialmente) y muy pocos se distribuyen a VLDL (Bisinotto et al., 2012).

Los cambios en el suministro de nutrientes interfieren en el metabolismo del colesterol y lípidos, alteran la composición del líquido folicular e interfieren en la producción de hialuronano y proteoglicano de las células de la granulosa que son las encargados de crear un gradiente osmótico para la extracción de líquido de la vasculatura tecal a través del intersticio tecal, lámina basal folicular y células de la granulosa mural (Bisinotto et al., 2012).

3.5.6. Proteínas

La albúmina es una proteína transportadora de ácidos grasos y hormonas esteroideas, es un indicador nutricional temprano muy sensible del estado de las proteínas totales a nivel plasmático (Ayoub et al., 2015). La baja ingesta de proteína cruda (PC) limita el consumo de energía, se genera una depleción en el suministro de nitrógeno hacia el rumen y desciende la actividad microbiana; por el contrario, un exceso de PC con bajas cantidades de energía disminuye la fertilidad de la hembra al tener excesivas concentraciones de urea y amoníaco a nivel sanguíneo, afectando a los ovocitos en la maduración, fertilización y desarrollo hasta la etapa de embrión (Bindari et al., 2013).

3.5.7. Nitrógeno ureico

El nitrógeno ureico en sangre (BUN) es un indicador de la ingesta de PC, así como de la relación: energía-proteína (equilibrio). Los niveles bajos de urea indica una ingesta deficiente de materia seca (MS), la urea se utiliza para la síntesis de proteínas en la vía ruminohepática como compensación de la baja absorción de proteínas. Altas concentraciones de urea y amoníaco en sangre son tóxicos y afectan la viabilidad de espermatozoides, óvulos y embriones, esto se debe a dietas altas en proteínas (Ayoub et al., 2015) o al resultado de un incremento en la degradación de las proteínas corporales (Hidalgo et al., 2004).

3.6. Factores hormonales que afectan la reproducción

3.6.1. Eje gonadotrópico

El hipotálamo se encarga de secretar las hormonas gonadotropinas (GnRH) al recibir señales del sistema nervioso central (SNC), esta señal se libera al lóbulo anterior de la hipófisis y se estimula para secretar la hormona foliculoestimulante (FSH) y luteinizante (LH) a partir de las células gonadotrópicas. La secreción de GnRH está dada por la despolarización sincronizada de las neuronas que sintetizan esta hormona, la libera al sistema circulatorio y es conocido como “generador de impulsos” (Lagos, 2019).

Este generador de impulsos es regulado por la concentración endógena de esteroides que están en el área del hipotálamo y a su vez es dependiente de Adenosín Trifosfato (ATP) o energía. El ATP garantiza que se dé la secreción hormonal de manera normal en el individuo. El eje hipotálamo-hipófisis-gónada es hipersensible a los efectos de retroalimentación negativa (causado por el BEN) del estradiol (E₂) de los ovarios (Sierra, 2016).

La secreción de GnRH es de forma pulsátil, su frecuencia y amplitud varía con la etapa de ciclo y gracias a esto se da una retroalimentación o feedback (positivo o negativo +/-) (Castañeda et al., 2005). La GnRH se almacena en el hipotálamo basal medio y mantiene una conexión con un enlace humoral entre el sistema neural y endócrino. Las señales neurales liberan pulsos de GnRH hacia el sistema portal hipofisiario para la liberación de FSH y LH desde la hipófisis anterior; y al mismo tiempo es controlada su liberación por la GnRH, E₂ y progesterona. La liberación de la FSH y LH es pulsátil, siendo interrumpida por un pico masivo de LH durante la fase del estro, el cual es disparado por la GnRH ocasionado por la mayor liberación de 17-betaestradiol durante el proestro (feedback positivo +) (Lagos, 2019).

La liberación de GnRH y LH se mitiga al momento que se inhibe la glicólisis a nivel neuronal, la síntesis de GnRH se bloquea por completo, la frecuencia de los impulsos se limita aún más por la retroalimentación negativa (Feedback -) de los estrógenos *per se* a nivel hipotalámico que potencializa su actividad con los niveles disminuidos de glucosa sanguínea (Velasco. H, 2020). Al momento que disminuye la liberación de GnRH se inhibe la secreción de FSH y los picos de LH, esta caída hormonal afecta la funcionalidad del ovario al provocar que se extienda el periodo de anestro. También la baja disponibilidad de ATP durante el BEN no solo suprime la secreción pulsátil de LH, sino que también reduce la respuesta ovárica a la estimulación de LH debido a la baja disponibilidad de insulina que limita la respuesta del ovario a la estimulación de las gonadotropinas (Bloom & Reenen, 2013).

La FSH estimula el desarrollo de los folículos ováricos y la LH estimula la síntesis de la hormona androstenediona a partir del colesterol, esta hormona se convierte en testosterona que se aromatiza en las células de la granulosa del folículo por la influencia de la FSH y se convierte en 17-beta-estradiol (Lagos, 2019). La FSH actúa induciendo la formación de receptores para LH en las células de la granulosa, aumentando su número y sensibilidad desde que aparecen en el folículo de 2,5 mm hasta ser predominante (preovulatorio). Se asocia el desarrollo de folículos con IGF-1, donde la inactivación de este provoca que se detenga el desarrollo de los folículos en la etapa pre-antral y son incapaces de responder al estímulo de las hormonas gonadotrópicas (Castañeda et al., 2005).

La secreción de GnRH ayuda a que se desarrolle la dinámica folicular, permitiendo el crecimiento y maduración de folículos y ovocitos. Las concentraciones plasmáticas de las hormonas gonadotrópicas garantizan el crecimiento de los folículos y la ovulación, posterior a ello la fertilización de los ovocitos y su concepción (Castañeda et al., 2005). Durante el ciclo estral se dan dos tipos de secreciones de la hormona luteinizante; observando, la secreción tónica o progestacional durante la fase lútea y la secreción cíclica o preovulatorio durante el estro, en ambos casos su secreción está regulada por la acción combinada de la progesterona (P_4) y estrógenos (E_2) (Nagwa et al., 2020).

El sistema endócrino depende del estatus nutricional del organismo, ya que para sintetizar las hormonas se necesita de proteínas, colesterol, ácidos grasos y aminos para poder secretar FSH y LH, estrógenos, prostaglandina F2-Alfa ($PGF_{2\alpha}$) y finalmente melatonina respectivamente. El crecimiento de folículos y ovocitos está influenciado por las hormonas intraováricas que actúan sobre receptores que estimulan al ovocito en su crecimiento, desarrollo y maduración, como el factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1) y el factor de crecimiento epidérmico (Lagos, 2019).

3.6.2. Eje somatotrófico

El eje somatotrófico regula la distribución de energía y nutrientes al sistema reproductivo en diferentes niveles del eje hipotálamo-hipófisis-gónada. La somatotropina es un regulador esencial dentro del eje, es producida en las células somatotropas de la glándula pituitaria, cuya función es incrementar la disponibilidad y eficiencia de utilización de los nutrientes (Velasco. H, 2020).

El eje hipotálamo-hipófisis-gónada tiene receptores para el ARNm de la hormona de crecimiento (GH), tiene una relación directa con la secreción de hormonas gonadotrópicas (GnRH), durante el BEN la GH aumenta en el plasma e inhibe la secreción de GnRH. La GH está controlada por el factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1), que al mismo tiempo regula la secreción *in vitro* de estradiol (E_2) por parte de las células de la granulosa (Neira-Rivera et al., 2023).

El tejido somático regula las actividades reproductivas al estimular directamente el hígado, músculos y adipocitos para liberar metabolitos como la glucosa y NEFA. La GH también actúa sobre el páncreas e intestino para promover la liberación de varias hormonas y metabolitos incluido el IGF-1, junto con la insulina, grelina y leptina que retroalimentan los centros que controlan el apetito. Un excesivo aumento de la GH y NEFA antagonizan la acción de la insulina y crea un estado de resistencia a la insulina, se reduce la absorción de glucosa en los tejidos dependientes de insulina, conservando la glucosa para la producción (Chagas et al., 2007).

Al no existir energía a nivel plasmático se declinan los niveles de IGF-1 provocando un desarrollo lento y anormal de folículos los cuales nunca llegan a ovular, esto conlleva al incremento de los niveles de somatotropina bovina (bSTr) que participa en el reclutamiento de folículos ováricos, acelerando su maduración en la segunda onda de la dinámica folicular y al finalizar se encuentran folículos con gran desarrollo (Granja, S. et al., 2012). Al aplicar bSTr mejora la fertilidad de vacas debido al aumento de IGF-1, hay un buen desarrollo embrionario porque la bSTr aumenta el metabolismo gluconeogénico. La estimulación no controlada sobre el hipotálamo puede tener efectos divergentes, al sobre estimular la GH puede inhibir la secreción de hormonas gonadotrópicas. Al activarse las neuronas específicas del prosencéfalo, el neuropéptido Y (NPY) libera supresores del pulso generador de GnRH hipotalámica (Velasco. H, 2020).

Durante el BEN la insulina y glucosa disminuyen y la GH aumenta para promover la lipólisis. A pesar de tener GH alta a nivel sanguíneo hay una disminución del factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1) porque la insulina es baja y ya no es capaz de estimular la expresión del receptor 1A de GH; por lo tanto, sin esto la GH no puede estimular la producción de IGF-1, se dice que el eje somatotrófico se desacopla (Kaewlamun et al., 2020).

3.6.3. Insulina

La insulina actúa como señalizador metabólico y hormonal sobre la reproducción, pero no actúa de manera independiente, sirve como intermediario para que se da la interacción con otros factores metabólicos como el GLUT-4, transportador de insulina capaz de regular a los tejidos músculo esquelético y adiposo (Castañeda et al., 2005). El GLUT-4 está inmiscuido en la interacción insulina-glucosa, controla la secreción de GnRH al aumentar la translocación del transportador desde los sitios extracelulares a la membrana plasmática (Hidalgo et al., 2004).

La insulina estimula el crecimiento, maduración y diferenciación folicular, participa en la esteroidogénesis y secreción de hormonas gonadotrópicas, también estimula *in vitro* la proliferación y función de las células de la granulosa y células tecales debido a que la insulina del torrente sanguíneo llega al fluido cerebro espinal (CSF) del tejido hipotalámico, actúa como modulador metabólico en su secreción. Además de transmitir información sobre la cantidad de reservas corporales tiene la función de transmitir información metabólica a las rutas neuroendocrinas que controlan las funciones reproductivas (Castañeda et al., 2005).

La insulina se encarga de contrarrestar el déficit nutricional, al tener una excesiva movilización de las reservas corporales se acelera la sensibilidad de la insulina aumentando aún más la lipidosis. La versatilidad de la insulina ayuda a la adaptación de la microbiota ruminal de los animales que se les suministra dietas con altos niveles de energía a diferencia de los animales que no están acostumbrados a recibir este tipo de dietas (Lagos, 2019).

La inyección de insulina vía sistémica en el animal (subcutánea-muscular) incrementa la frecuencia del pulso de LH por 4 días en ovejas y también de estradiol (E₂) (Kaewlamun et al., 2020). El tejido neural es sensible a los cambios de la dieta y no a las fluctuaciones que se puedan dar en las concentraciones de la insulina en el plasma, lo cual implica cambios en la expresión del receptor de insulina o en los mecanismos de señalización intracelular (Castañeda et al., 2005).

En una realimentación se incrementan los niveles de insulina y la secreción de LH; sin embargo, en un déficit calórico se mantienen los niveles nadir de insulina y no declina la secreción de LH porque existen mecanismos que aunque la insulina no esté en el torrente sanguíneo responden a la subalimentación restaurando la secreción o pulsatilidad de LH (Castañeda et al., 2005). La insulina aumenta la producción y vida media de la progesterona (P_4) estimulando la absorción del colesterol en los ovarios y reduciendo la eliminación de esteroides hepáticos (Kaewlamun et al., 2020). En un estrés metabólico se alteran las funciones endócrinas provocando oscilaciones en los niveles de insulina, GH, IGF-1, urea, glucosa y NEFA (Velasco. H, 2020).

El BEN provoca tanto disminución de los niveles de insulina como de la sensibilidad de los tejidos a la misma. El mecanismo homeorrético del organismo por intentar incrementar los niveles de glucosa en sangre aumenta los NEFA a nivel sérico, y esto también provoca disminución de la sensibilidad a la insulina al inducir la acumulación de ceramida (ácido palmítico – precursor) en el plasma e hígado (Kaewlamun et al., 2020). La insulina en otras palabras, es uno de los ejes principales para la reproducción ya que actúa ejerciendo un efecto mitogénico y antiapoptótico en los embriones, por eso aumenta el desarrollo de los mismos (Aguilar, 2016).

3.6.4. Factor de crecimiento similar a la insulina

El factor de crecimiento similar a la insulina (IGF) está vinculado en el retorno de la ciclicidad de las hembras ya que tiene receptores con acción y estructura similar a la insulina en el tejido adiposo y muscular. El IGF junto con la insulina desempeña un papel fundamental en el crecimiento y desarrollo folicular al activar de forma directa las células ováricas, y de manera inversa una deficiencia de estos, causa quistes foliculares. El factor de crecimiento similar a la insulina está conformado por dos ligandos: el IGF-1 e IGF-2, con sus respectivos receptores 1 y 2 (Velasco. H, 2020).

El factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1) o también llamada somatomedina tiene funciones específicas a nivel del ovario, y más aún sobre el folículo y ovocito. Es un péptido/hormona proteica de tipo anabólica que refleja el estado nutricional del animal afectando el crecimiento y maduración folicular, está asociado a la tasa de concepción y es por eso que el IGF-1 junto con la insulina se los conoce como “*indicadores metabólicos de la fertilidad*” (Velasco. H, 2020).

El hígado es el encargado de liberar IGF-1, este estimula el crecimiento y desarrollo de los folículos ováricos. Sobre el folículo el IGF-1 regula su desarrollo al intervenir en el crecimiento del folículo dominante (FD); por otro lado, la insulina estimula al FD a la maduración y lo acerca a la ovulación donde interviene la LH (Velasco. H, 2020). El IGF-1 estimula a las células de la granulosa hasta que las células tecaes proliferen y también ejercen una función sobre el cuerpo lúteo aumentando los niveles de P_4 durante la preñez (Hidalgo et al., 2004).

En el hipotálamo existen receptores para el IGF-1 y sirven como enlace para la secreción de gonadotropinas, aplicando IGF-1 vía intracerebroventricular (ICV) se induce la liberación de GnRH y LH, estos dos mediadores sirven como indicadores a nivel central del estado nutricional. Las concentraciones de IGF-1 están asociadas positivamente con la condición corporal y negativamente con la duración del anestro en vaquillas y vacas posparto; es decir, el IGF-1 tiene control sobre las neuronas productoras de GnRH (Castañeda et al., 2005).

Existe una correlación positiva entre la cantidad de IGF-1 en el líquido folicular con la concentración plasmática de IGF-1, descubriendo que esto genera una relación positiva entre la pulsatilidad de la LH y el desarrollo folicular, en contraste a las concentraciones de estradiol (E_2) y de IGF-1 a nivel plasmático. El flujo sanguíneo hepático disminuye cuando existe un déficit nutricional, se puede esperar que exista un bajo metabolismo de hormonas esteroideas (progesterona y estrógenos); por lo tanto, existe un catabolismo exacerbado disminuyendo la eficiencia reproductiva que causan la infertilidad del animal (Granja, S. et al., 2012).

El ovario tiene receptores de IGF-1 donde se estimula la proliferación de células de la granulosa y se promueve la esteroidogénesis, foliculogénesis, ovulación, fertilización, implantación y desarrollo embrionario. Si se suprime la secreción de IGF-1 se inhibe la retroalimentación negativa del IGF-1 en el eje hipotálamo-hipófisis y las concentraciones de GH se incrementan (Castañeda et al., 2005). Niveles altos de GH estimula la gluconeogénesis en el hígado y la lipólisis en los adipocitos. Altas concentraciones de NEFA y GH antagonizan la acción de la insulina, por lo que crea un estado de resistencia a insulina (Velasco. H, 2020).

El número de folículos y la concentración de estradiol (E_2) durante el periodo de anestro son menores en vacas que han sido alimentadas con dietas bajas en energía, existen mecanismos de regulación que tratan de estimular los receptores de FSH en las células de la granulosa, para poder aumentar la síntesis de E_2 y contribuir con el proceso de selección folicular, como es el caso del IGF-1 (Hena Restrepo, 2001). Frente a estímulos el IGF-2 producido localmente y el IGF-1 circulante influyen sobre la respuesta de las células de la teca y granulosa a las gonadotropinas (Nagwa et al., 2020).

3.6.5. Leptina

Se produce en los adipocitos, actúa en la modulación nutricional y metabólica de los tejidos, se asocia niveles altos de GnRH cuando se incrementa a nivel plasmático la leptina. Participa en la reproducción modulando la partición de nutrientes o aportes energéticos de las reservas corporales al igual que la GH; pero cuando ésta se eleva, tiene un efecto negativo sobre la secreción de GnRH a nivel hipotalámico y sobre el reinicio de la etapa foliculogénica puerperal (Granja, S. et al., 2012). Al fluido cerebroespinal llega la leptina quedando a disponibilidad para acoplarse y activarse con los receptores específicos que están en el hipotálamo, encargados de regular el balance de energía. La administración exógena de leptina reduce el consumo de alimento y el animal pierde peso, esto se debe a la inhibición del neuropéptido Y (NPY), un potente estimulador del consumo de alimento (Castañeda et al., 2005).

La secreción de leptina está correlacionada con los niveles del IGF-1, perder por debajo de 12,1% de contenido graso la actividad ovárica cesa, por eso la leptina es un mecanismo de control en la reproducción al influir sobre el establecimiento de la pubertad (Bloom & Reenen, 2013). Gracias a que existe receptores de ARN para leptina en el hipotálamo y en la parte anterior de la hipófisis, se regula la secreción de la hormona luteinizante (LH) (Castañeda et al., 2005). Los receptores de leptina del ovario (células de la granulosa y teca) permiten que la hormona puede ejercer su función, actúa en la producción de progesterona y estradiol, también modula el desarrollo folicular y su acción depende de las concentraciones de IGF-1, GH e insulina (Velasco. H, 2020).

Altos niveles de leptina desensibilizan el eje GnRH y la esteroidogénesis ovárica, indicando un umbral inhibitorio. Cambiar el consumo de energía a corto plazo o durante un BEN de 2 días, se inhibe la frecuencia de los pulsos y concentración de LH (Hernández, 2002). La leptina incrementa la secreción de hormonas gonadotrópicas (GnRH) en animales estresados nutricionalmente, en animales bien alimentados no se ha observado actividad alguna; al contrario, un exceso de leptina produce la inhibición de la secreción de estradiol en el ovario por parte de los folículos (Castañeda et al., 2005).

3.6.6. Adiponectina, grelina y neuropéptido Y

La adiponectina es una hormona secretada por los adipocitos que regula el metabolismo energético estimulando la oxidación de los ácidos grasos. La medición de adiponectina en sangre proporciona información sobre la adaptación de las vacas para afrontar los desafíos metabólicos. El aumento de la adiponectina ocurre independientemente de la pérdida de adiposidad (Rodrigues et al., 2015).

La integración de hormonas como la adiponectina y grelina, vincula la nutrición con la reproducción. La grelina en respuesta a una mayor ingesta de alimento tiende a disminuir, hay mayor actividad de los centros reproductivos en el cerebro cuando esta disminuye (Chagas et al., 2007). Cuando se da un periodo de restricción alimenticia se movilizan las reservas y al mismo tiempo por la oxidación de las grasas aumenta el neuropéptido Y (NPY), y este inhibe la liberación de hormona luteinizante (Velasco. H, 2020).

3.6.7. Estrógenos y progesterona

Los estrógenos (E_2) ejercen retroalimentación negativa sobre el centro tónico y positiva sobre el cíclico, los estrógenos en ausencia de progesterona estimulan al hipotálamo para aumentar la frecuencia de los pulsos de GnRH, y sobre la hipófisis incrementan la síntesis de receptores de GnRH y la vuelven más sensible a la GnRH estimulando la síntesis del pico de LH y permiten la ovulación de folículo maduro o dominante (Graff) (Neira-Rivera et al., 2023).

Existe una relación entre el nivel de progesterona sérica (P_4) 12 días antes del primer servicio en vacas y su porcentaje en la tasa de concepción al primer servicio; por cada ng/dl de P_4 , se incrementa 12% el nivel de la concepción. Por cada kg de PV ganado 28 días antes del primer servicio el nivel de progesterona aumenta 0,3 ng/dl, indicando que se debe realizar un *flushing* energético antes de dar servicio a las hembras nulíparas (Granja, S. et al., 2012).

3.6.8. Otros factores que controlan la reproducción

El receptor de la tirosina quinasa (c-kit) y su ligando SCF están en el ovocito y células de la granulosa, si hay un bloqueo de estos factores de células troncales se produce un bloqueo total en el desarrollo de los folículos y por ende afecta la ovulación (Castañeda et al., 2005). Si se inhibe la proteína morfogenética ósea 15 (BMP-15), homólogo de GDF-9 se reduce la ovulación y se detiene el crecimiento folicular en la etapa de folículo primario. El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) participa en la angiogénesis y es indispensable para el crecimiento de folículos antrales y del cuerpo lúteo (CL) (Webb et al., 2016).

Los andrógenos incrementan la expresión de receptores para los IGF-1 e IGF-2 en los ovocitos de folículos primordiales. El Factor Básico de Crecimiento de Fibroblastos (bFGF), Factor de Crecimiento Neural (NGF) son involucrados en la estimulación del reclutamiento y crecimiento folicular (Castañeda et al., 2005). Factores propios de ovario como el Factor de Crecimiento y Diferenciación 9 (GDF-9) y Factor de Crecimiento-Beta ($TGF-\beta$) secretado por el ovocito tienen una importante función en el reclutamiento y crecimiento del folículo basal y su ausencia causa infertilidad en ratas (Castañeda et al., 2005).

3.7. Aplicación de la ultrasonografía en la reproducción animal

3.7.1. Recuento de folículos antrales

Comprende en realizar varias observaciones para cuantificar el número de folículos antrales y poder evaluar la reserva (pool) de folículos (prepubertad y pubertad) que tiene la hembra. Este proceso (repetibilidad) en el mismo individuo permite clasificar animales según el recuento de folículos antrales (RFA), utilizando únicamente la ultrasonografía; si tenemos, un alto, medio o bajo nivel de RFA podemos estimar el nivel de fertilidad en las hembras y su capacidad reproductiva (49). Según el diámetro folicular se los clasifica en: pequeños (2-5 mm), medianos (5-8 mm) y grandes (>8 mm) según lo descrito por (Neira-Rivera et al., 2023).

3.7.2. Evaluación de la calidad de los ovocitos

Para tipificar la calidad del ovocito se basa en varios parámetros como: estado nuclear, células del cúmulus y apariencia homogénea del citoplasma. Las células del cúmulus son subpoblaciones de células de la granulosa que aportan nutrientes al ovocito durante su crecimiento, participan en la formación de la zona pelúcida, sintetizan la matriz compuesta de ácido hialurónico y proteínas que juegan un papel importante en el transporte del ovocito a través del oviducto y permiten atrapar al espermatozoide para la fertilización (Martínez, 2013).

Se los puede clasificar de la siguiente manera: tipo A, ovocito con células de cúmulus con número de capas mayor a 4 y compactas, citoplasma homogéneo y transparente; tipo B, tiene entre 1 a 3 capas de células del cúmulus y un citoplasma homogéneo con zonas periféricas oscuras; tipo C, cúmulus denudado y un citoplasma irregular y con zonas oscuras; y tipo D, cúmulus denudado con células expandidas y un citoplasma irregular con zonas oscuras. Es importante observar si el ooplasma está negro u oscuro, nos indica un ovocito envejecido que tiene bajo potencial para soportar el desarrollo (Luis & Jorge, 2017).

3.7.3. Aspiración folicular guiada por ultrasonografía

Mejor conocida por sus siglas en inglés OPU (*Ovum Pick Up*), la aspiración folicular ecoguiada es una técnica *in vivo*, mediante la cual los ovocitos inmaduros son recolectados de los folículos directamente del ovario de la hembra por aspiración a través de la pared vaginal. El equipo para realizar OPU consta de varios elementos, como: equipo de ultrasonografía (ecógrafo), transductor sectorial, bomba de aspiración y un sistema de guía de la aguja (Astiz et al., 2012).

La sonda ultrasonográfica se la emplea con la finalidad de que le permita al operador la manipulación de la aguja desde el exterior del animal y de esta forma se pueda observar cuando ésta penetra dentro de los folículos que serán aspirados. La aguja está conectada directamente a la bomba de vacío por medio de una guía plástica (tubería) o de silicona, que permite vaciar el contenido folicular aspirado en el filtro o contenedor (tubo cónico). Las hembras a utilizar en el procedimiento de OPU deben estar sedadas con xilacina y anestesiadas localmente (epidural) con lidocaína, luego se procede a limpiar y desinfectar la zona de la vulva y perineo para evitar la contaminación de muestras y equipo al momento de proceder con la aspiración (Astiz et al., 2012).

Culminada la asepsia y antisepsia se procede a introducir por el canal vaginal el transductor que tiene acoplado el sistema de guía de la aguja, para esto no es necesario introducir la mano por la vagina, solo se debe tratar de colocar al transductor en cualquiera de los lados del cérvix esto según sea el ovario destinado a puncionar. Se introduce la mano izquierda por el recto y se fija el ovario contra la cabeza del transductor lo que permite visualizarlo en la pantalla del equipo de ultrasonografía, al igual que los folículos y la aguja (Astiz et al., 2012).

Una vez ubicado el folículo a ser aspirado en la pantalla del equipo de ecografía se procede a realizar la aspiración impulsando la aguja suavemente para que penetre la pared vaginal y luego la folicular; una vez logrado, la bomba al vacío se encarga de aspirar el contenido que está dentro del folículo y lo deposita en el contenedor o tubo con el medio (líquido) para folículos debidamente temperado (37°C) (Luis & Jorge, 2017).

4. Materiales y métodos

4.1. Materiales

4.1.1. Biológicos

- Vaconas.

4.1.2. Químicos

- Propilenglicol (1,2 propanediol, 1,03 g/ml, Propilenglicol, USP Rochem, Ecuador).
- Prostaglandina (PgF2 α , D-cloprostenol de sodio, Estrogest, LIVISTO., AniMedica., Alemania).
- Alcohol (Etanol, Farmanova, Alcohol Antiséptico 70°, Didelsa CIA. Ltda., Ecuador).
- Lidocaína Clorhidrato monohidrato (Lidocaína Clorhidrato, Roxicaina 2%, Ropsohn Therapeutics Ltda., Colombia).
- Xilacina (Xilacina Clorhidrato, Xilacina 20% TM Richmond, Laboratorios Richmond División Veterinaria S.A., Argentina).
- Flunixin Meglumine (Flunixin meglumine, LHIFLUNEX, James Brown pharma C.A., Ecuador).
- Glicerina (Glicerina, Gel Conductor Chatanoga, Medivital s.c.c., Ecuador).
- Medio para COC's (lactado de ringer suplementado con 1% de polivinil alcohol y 5 mg de heparina sódica).

4.1.3. Físicos

- Progesterona DIV (P₄, Biprogest, Laboratorios Bimeda®, México).
- Jeringa dosificadora (300 ml).
- Aguja 21G x 1 ½ y 18G x 1 ½.
- Aguja toma múltiple 21G.
- Jeringas de 1, 5 y 10 ml.
- Cooler y gel refrigerante.
- Centrífuga (Model PLC-05, Carperlabs., Colombia).
- Equipo de punción ovárica transvaginal (WTA, Cravinhos, Brasil).
- Tubos eppendorf (1 ml), tubos cónicos de 50 ml y tubos con anticoagulante EDTA.
- Ecógrafo (Aloka, Prosound 2, Japón).
- Guantes de inspección, ginecológicos y papel secante.
- Estereoscopio (SMZ 745, Nikon, Japón).
- Placas petri cuadrada (95 x 15 mm).
- EmCon de 100 μ m (Zona™, Agtech, USA).

4.2. Métodos

4.2.1. Área de estudio

La presente investigación se realizó de manera simultánea en la granja de “Irquis” y el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca, ubicados en el km 23 de la vía Cuenca – Girón, en la Parroquia Victoria del Portete (latitud $-3^{\circ}4'48''$ y longitud $-79^{\circ}4'31''$) que se encuentran a una altitud de 2663 m s.n.m. Las condiciones climáticas que presentó la granja son equivalentes al trópico alto, caracterizado por un clima templado, una precipitación media anual de 789 mm, y una temperatura entre 10 y 15° C.



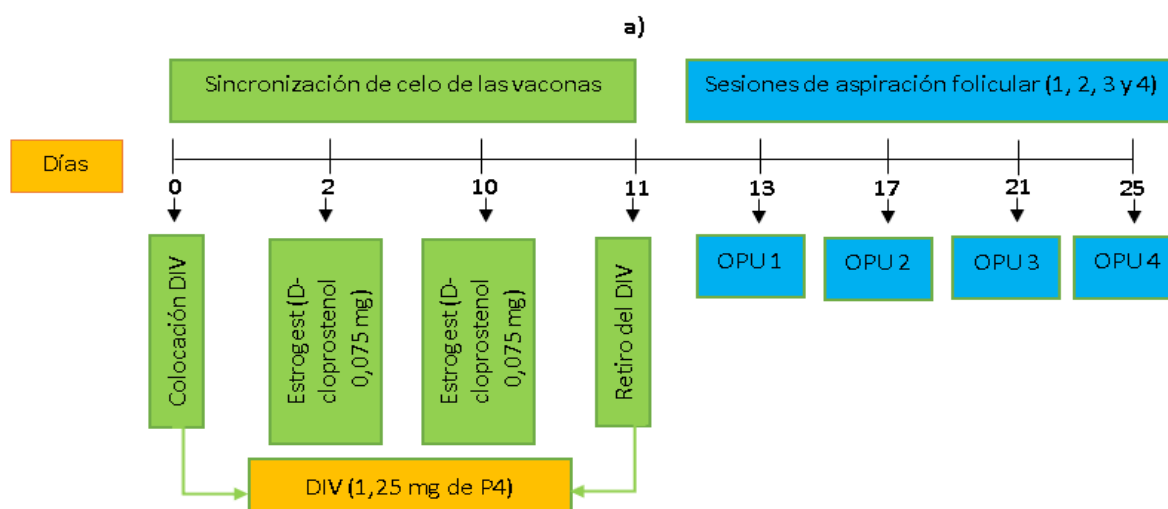
Figura 1: Ubicación geográfica “Granja Irquis” de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca. Tomado de Google Earth (2020).

4.2.2. Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar; para ello, se incluyeron 6 hembras bovinas mestizas nulíparas de la raza Holstein Friesian con edad comprendida entre 24 a 32 meses. La condición corporal de los animales tuvo una media de $2,7 \pm 0,7$, valorada en una escala de 5 puntos (1=emaciada, 5=obesa) (Paul et al., 2020), y este promedio se mantuvo durante todo el tiempo en la que se realizó el experimento, además estos animales estaban clínicamente sanas, con salud uterina y ovárica, y cíclicas lo que fue confirmado con la presencia de un cuerpo lúteo a través de ultrasonografía.

Los animales estuvieron bajo un sistema de pastoreo libre, el cual es el encargado de cubrir con los requerimientos de mantenimiento diario o necesidades nutricionales para vaquillas (7,48 Mcal/día E.N.m), según la NRC, 2001 (Linn, 2001). La composición de la pastura fue: Rye Grass Perenne (*Lolium perenne*), Rye Grass Anual (*Lolium multiflorum*), Pasto Azul (*Dactylis glomerata*), Kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y Trébol Blanco (*Trifolium repens*), además se les proporcionó agua *ad libitum*.

Para controlar el efecto individual de las unidades experimentales este experimento contemplo dos etapas; en la primera etapa la mitad de las hembras independientemente de cualquier parámetro fueron asignadas aleatoriamente a uno de los dos grupos: grupo control (CON=3) y grupo propilenglicol (PPG=3). A todas las hembras se les aplicó un protocolo de sincronización de estro que consistió en la inserción (Día 0) de un dispositivo intravaginal (DIV) de liberación de progesterona (1,25 g de P₄, Biprogest, Laboratorios Bimeda®, México) durante 11 días, después de dos (Día 2) y diez (Día 10) días de la inserción del dispositivo se administró 0,150 mg de prostaglandina (PgF_{2a}, D-cloprostenol de sodio, Estrogest=0,075 mg, LIVISTO., AniMedica., Alemania) vía intramuscular (Figura 2a).



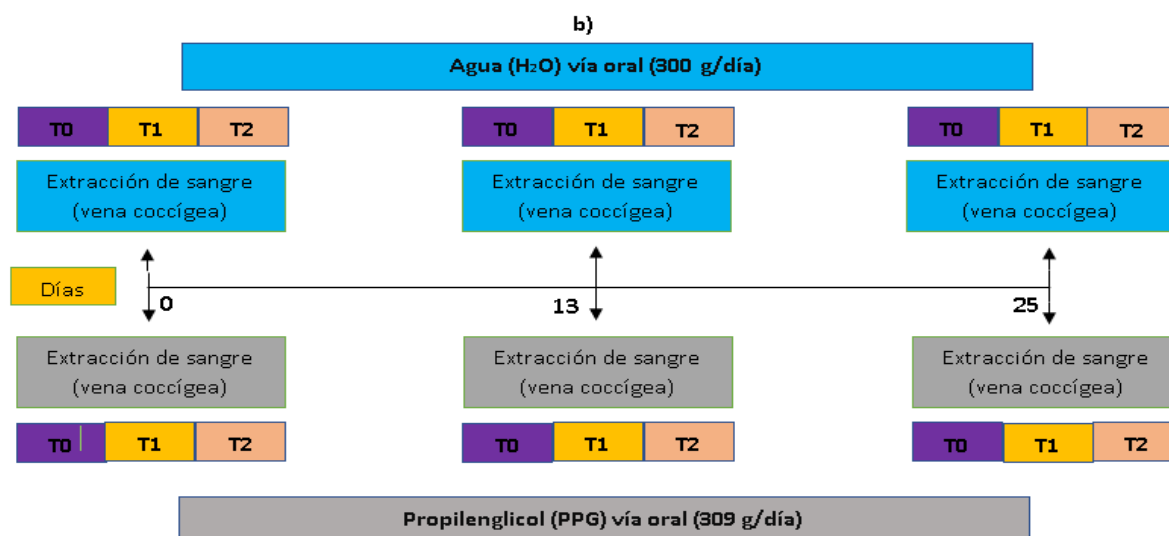


Figura 2: **a**: Protocolo de sincronización de celo de las vaconas de ambos grupos (PPG y CON) y protocolo de las sesiones de OPU de ambos grupos (PPG y CON); **b**: Protocolo de extracción de sangre de la vena coccígea de las vaconas del grupo PPG y CON. T0: antes de la administración; T1: después de una hora; T2: después de dos horas de la administración de propilenglicol en el grupo PPG y agua en el grupo CON.

En base a algunas investigaciones (Lomander et al., 2012); (Molina-Coto et al., 2018), se administró a las hembras del grupo tratamiento (grupo PPG) una dosis diaria de 309 g de propilenglicol (1,2 propanediol, 1,03 g/ml, Propilenglicol, USP Rochem, Ecuador) vía oral (300 ml) durante el tiempo que duró todo el experimento; es decir, desde el día 0 que fue el día de inicio de la sincronización, hasta el día 25 donde se concluyó con la última aspiración folicular. Los animales del grupo CON recibieron 300 ml de agua, por vía oral durante el mismo periodo.

Después de dos días del retiro del dispositivo intravaginal de progesterona, a todas las hembras de los dos grupos (PPG y CON) se les realizó 4 sesiones consecutivas de aspiración folicular transvaginal guiada por ultrasonografía (OPU, por sus siglas en inglés) con un lapso de 4 días entre sesiones (Figura 2a).

En la segunda etapa, luego de un descanso de 21 días de haber finalizado la primera etapa, se aplicó el mismo protocolo de sincronización a todas las hembras, pero se invirtieron las hembras en cada grupo para controlar el efecto individual; es decir, las hembras del grupo control formaron parte del grupo propilenglicol, y las hembras del grupo propilenglicol formaron parte del grupo control, y se siguió la misma metodología descrita para la primera etapa.

4.2.3. Valoración de los folículos a través de ultrasonografía

Para la valoración del número y diámetro folicular presente en ambos ovarios se realizó a cada grupo una ecografía transrectal antes de la inserción del DIV (día 0) y antes de cada sesión de OPU (días 13, 17, 21 y 25) utilizando un ecógrafo en modo B en tiempo real acoplado a una sonda lineal de 7,5 MHz (Aloka, Prosound 2, Japón).

En cada observación, cada ovario fue escaneando por lo menos 4 veces desde diferentes ángulos (dorsal, ventral, cráneo caudal) para poder precisar (mapa ovárico) las estructuras presentes. Se identificaron los folículos y/o cuerpo lúteo y se registraron en una hoja de campo. Los folículos fueron clasificados según su diámetro en pequeños (2-5 mm), medianos (5-8 mm) y grandes (>8 mm) según lo descrito por (Neira-Rivera et al., 2023).

4.2.4. Análisis de los niveles plasmáticos de metabolitos

Para la valoración del perfil metabólico se colectaron muestras de sangre los días 0, 13 y 25 del experimento; en cada día del muestreo, se tomó una muestra de sangre en tres momentos: antes de la administración de PPG (T0), después de una hora (T1) y dos horas de la administración de PPG (T2), y este mismo procedimiento se aplicó a las hembras del grupo CON antes y después de la administración de agua vía oral (Figura 2b).

Las muestras de sangre se obtuvieron por punción de la vena coccígea, con tubos al vacío impregnados con EDTA (Vacutainer® System Europe; Becton Dickinson, Meylan, Francia); inmediatamente, las muestras se centrifugaron (Model PLC-05, Carperlabs., Colombia) a 3.500 rpm durante 12 min, y se almacenaron en viales de polipropileno a -20°C , para su posterior análisis.

El análisis de las muestras de plasma se realizó utilizando un analizador automático de química seca (DRI-CHEM- NX500, Japón) se analizaron los siguientes parámetros bioquímicos indicadores del metabolismo glucídico, proteico y lipídico: glucosa (mg/dl), TCHO o colesterol total (mg/dl), TAG o triglicéridos (mg/dl), HDL-C o colesterol HDL (mg/dl), LDL-C o colesterol LDL (mg/dl) y BUN o nitrógeno ureico (mg/dl).

4.2.5. Preparación de animales para las sesiones de aspiración folicular transvaginal guiada por ultrasonografía (OPU).

Antes de cada sesión de aspiración de los folículos ováricos de las vaquillas, se procedió a realizar el vaciado de todo el contenido rectal (heces), seguido de una limpieza del área de la grupa y perianal con abundante agua (solución desinfectante) para evitar la contaminación de muestras y equipos durante la maniobra.

Después de la limpieza se aplicó anestesia epidural, la cual consistió en localizar el espacio intervertebral formado entre la primera y segunda vértebra coccígea (C1 y C2). Esta zona fue rasurada y desinfectada con una solución de alcohol y yodo y se procedió a la administración intervertebral de una mezcla de 0,004 mg de Xilacina (Xilacina Clorhidrato, Xilacina 20% TM Richmond, Richmond División Veterinaria S.A., Argentina) y 100 mg de Lidocaína Clorhidrato monohidrato (Lidocaína Clorhidrato, Roxicaina 2%, Ropsohn Therapeutics Ltda., Colombia). Después se realizó la aspiración de todos aquellos folículos visibles ≥ 2 mm presentes en cada ovario y fueron colectados en un tubo cónico de 50 ml que tenía medio de colecta para COC's (Lactado de Ringer suplementado con 1% de polivinil alcohol y 5 mg de heparina sódica) atemperado a 37°C.

Durante la aspiración de los folículos se mantuvo una presión de 80 mm de Hg (mercurio), en la bomba de aspiración del equipo de OPU (WTA, Cravinhos, Brasil). El técnico ejecutó la aspiración de aquellos folículos visibles de ≥ 2 mm, y se registró el número de folículos puncionados en una plantilla de campo. Después de cada sesión de OPU se aplicó vía intramuscular 500 mg (1,1 mg/kg PV, PV=450 kg/animal) de Flumixin Meglumine (LHIFLUNEX, James Brown pharma C.A., Ecuador).

4.2.6. Valoración y clasificación de los complejos cúmulo ovocito

Al término de cada sesión de OPU, se trasladó el tubo cónico al laboratorio de biotecnología, para su procesamiento en cual consistió en verter el contenido en un filtro celular EmCon de 100 μm (Zona™, Agtech, USA) y realizar lavados hasta obtener un líquido claro. Este contenido se transfirió a una placa cuadrículada de 95 mm, y se procedió a realizar la visualización del contenido bajo la luz de un estereomicroscopio (SMZ 745, Nikon, Japón) y obtener ovocitos para la clasificación de estos de acuerdo a los criterios morfológicos indicados por (Ayala Guanga et al., 2020).

Para la clasificación de la calidad de los ovocitos se siguió los siguientes criterios: calidad A, apariencia compacta con múltiples capas (>4) de células de cúmulo, citoplasma granular uniforme y transparente; calidad B, 1 a 3 capas de células de cúmulo que cubrían la zona pelúcida, con citoplasma opaco que era total o parcialmente homogéneo y finamente granulado; calidad C, parcial o totalmente desnudados, citoplasma con áreas oscuras irregulares y calidad D, células del cúmulo completamente expandidas y decoloradas (Figura 3) (Ayala Guanga et al., 2020).

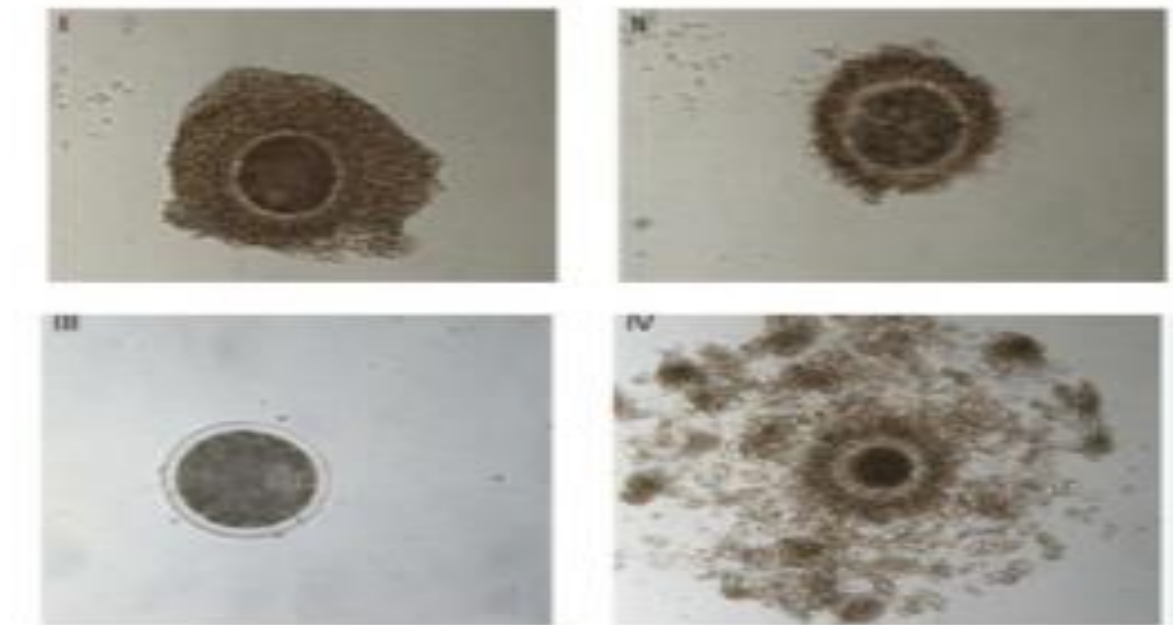


Figura 3: Clasificación de los COC's; Tipo A (I), Tipo B (II), Tipo C (III) y Tipo D (IV).

Tomado de: (Hasler, 1981).

4.2.7. Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron tabulados en una base en Excel y posteriormente se analizaron mediante el paquete estadístico STATISTICAS® 12.0 (StatSoft, Tulsa, Oklahoma, EE. UU.). Se realizó una prueba de Shapiro Wilk para determinar la normalidad de los datos de todas las variables (muestra menor a 50). Como en este caso no siguieron la distribución normal, los datos numéricos y porcentuales fueron transformados a Log-10 y al arcoseno, respectivamente, antes del análisis estadístico paramétrico. Los efectos de la adición de propilenglicol sobre los cambios a lo largo del tiempo (Día 0=OPU1; Día 4=OPU2; Día 8=OPU3; Día 12=OPU 4) de las variables dependientes como: número y diámetro folicular, cantidad de COC's, porcentaje de recuperación de COC's y tipos de COC's, así como los niveles plasmáticos de glucosa (mg/dl), TCHO o colesterol total (mg/dl), TAG o triglicéridos (mg/dl), HDL-C o colesterol HDL (mg/dl), LDL-C o colesterol LDL (mg/dl) y BUN o nitrógeno ureico (mg/dl), de las vaquillas fueron analizados mediante un análisis de varianza de medidas repetidas (GLM ANOVA) con la corrección de Green-Houser-Geisser. Para determinar las diferencias entre grupos en comparaciones múltiples en cada momento de medición se utilizó la prueba Post-Hoc de Bonferroni. Los datos presentados en las figuras se expresaron como valores medios \pm error estándar de la media. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas a partir de $p < 0,05$, y las comprometidas entre 0,051 y 0,10 se consideraron como tendencia estadística.

5. Resultados

5.1. Efecto de la administración de propilenglicol sobre el número total de folículos

La población de folículos entre 2 – 5 mm fue mayor en la primera, tercera y cuarta sesión de OPU (Figura 4A; $p=0,05$), sin ser estadísticamente diferente entre el grupo PPG y Control ($p>0,05$). Sin embargo, la cantidad de folículos de 5 – 8 mm en el grupo PPG fue mayor en la segunda y tercera sesión de OPU en comparación con el grupo Control ($p=0,04$). No obstante, el número de folículos > 8 mm no cambió en las diferentes sesiones de OPU siendo similares entre ambos grupos (Figura 4C; $p>0,05$). Al finalizar las diferentes sesiones de OPU se contabilizó el total de folículos observados en la superficie ovárica, independientemente del tamaño de estos, y se observó que la administración de PPG aumentó el número de estos en las diferentes sesiones de OPU ($p=0,003$) siendo mayor en el grupo PPG comparado con el grupo Control (Figura 4D; $p=0,05$).

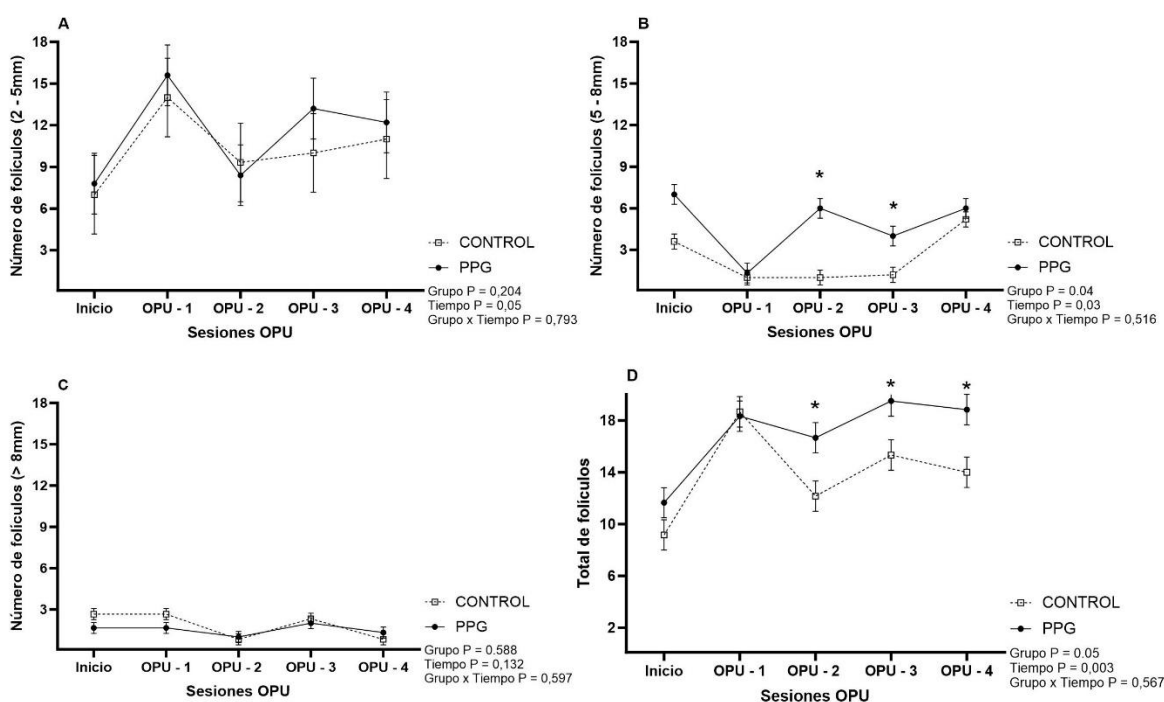


Figura 4: Número de folículos categorizados en diferentes tamaños: 2 – 5 mm (panel A), 5 – 8 mm (panel B) y > 8 mm (panel C) y folículos totales (panel D), al inicio del experimento y en cada sesión de OPU en vaquillas que recibieron propilenglicol (línea negra) o agua (control; línea punteada) a través del periodo de estudio. Los datos se muestran con el valor medio \pm error estándar de la media (EEM). Asteriscos indican diferencia estadística significativa entre grupos ($p<0,05$).

Además, durante todo el periodo de estudio, se observó que la población de folículos de 2 – 5 mm siempre fue mayor en comparación con los folículos de 5 – 8 mm y >8 mm (Figura 5B; 5C, 5D y 5E) en cada una de las sesiones de OPU, pero sin llegar a ser diferentes entre ambos tratamientos ($p>0,05$).

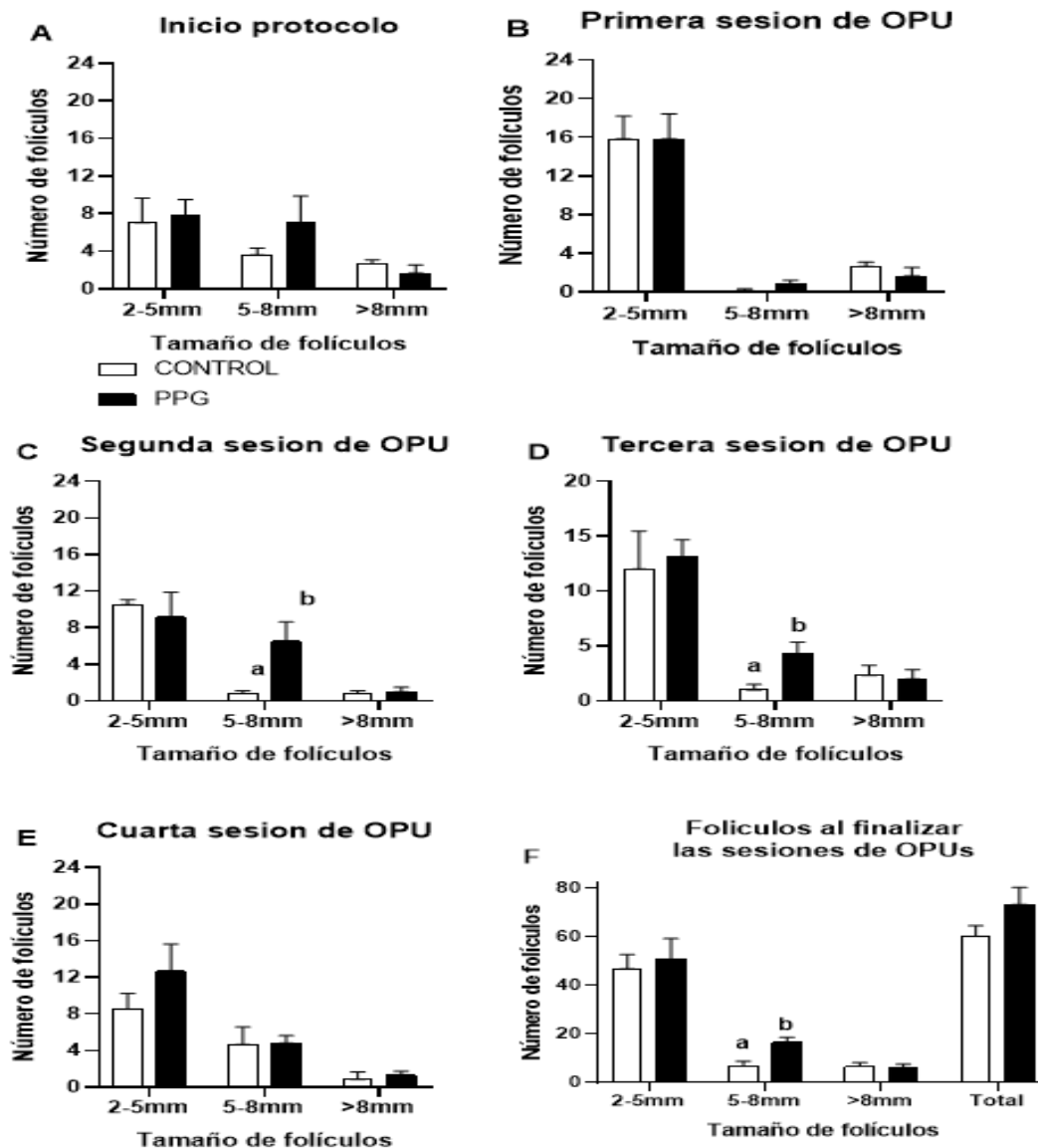


Figura 5: Número de folículos de diferentes tamaños y folículos totales en cada sesión de OPU en vaquillas que recibieron propilenglicol (barras negras) o agua (control; barras blancas) a través del periodo de estudio. Los datos se muestran con el valor medio \pm error estándar de la media (EEM). Diferentes letras indican diferencia estadística significativa entre grupos ($p<0,05$).

5.2. Efecto de la administración de propilenglicol sobre el número de folículos punccionados y la cantidad y tipo de complejo cúmulo – ovocito (COC)

El número de folículos punccionados en la tercera sesión de OPU fue mayor ($p=0,05$) en el grupo PPG (Figura 6A); sin embargo, al igual que en el resto de las sesiones no existió diferencia significativa entre grupos ($p>0,05$). Asimismo, el número de COC’s obtenidos de la segunda, tercera y cuarta sesión de OPU fue mayor en el grupo PPG (Figura 6B; $p=0,05$), mientras que la cantidad de COC’s obtenidos en la primera sesión fue similar entre ambos grupos ($p>0,05$).

Al realizar la clasificación de los tipos de COC’s obtenidos al final de las cuatro sesiones de OPU se obtuvieron una mayor cantidad de tipo B y D, aunque sin diferencias estadísticas entre ambos grupos, mientras que los COC’s de tipo A y C fueron los que menos se obtuvieron en todas las sesiones, sin embargo, a pesar de tener una menor cantidad este fue mayor en el grupo PPG (Figura 6D; $p<0,05$). La relación entre el número de folículos observados antes de la punción con el número de COC’s obtenidos sin clasificarlos según el tipo permitió obtener el porcentaje de recuperación entre las varias sesiones de OPU, siendo este porcentaje mayor en la segunda sesión de OPU, pero similar entre grupos ($p>0,05$) en las sesiones restantes ($p>0,05$) (Figura 6C).

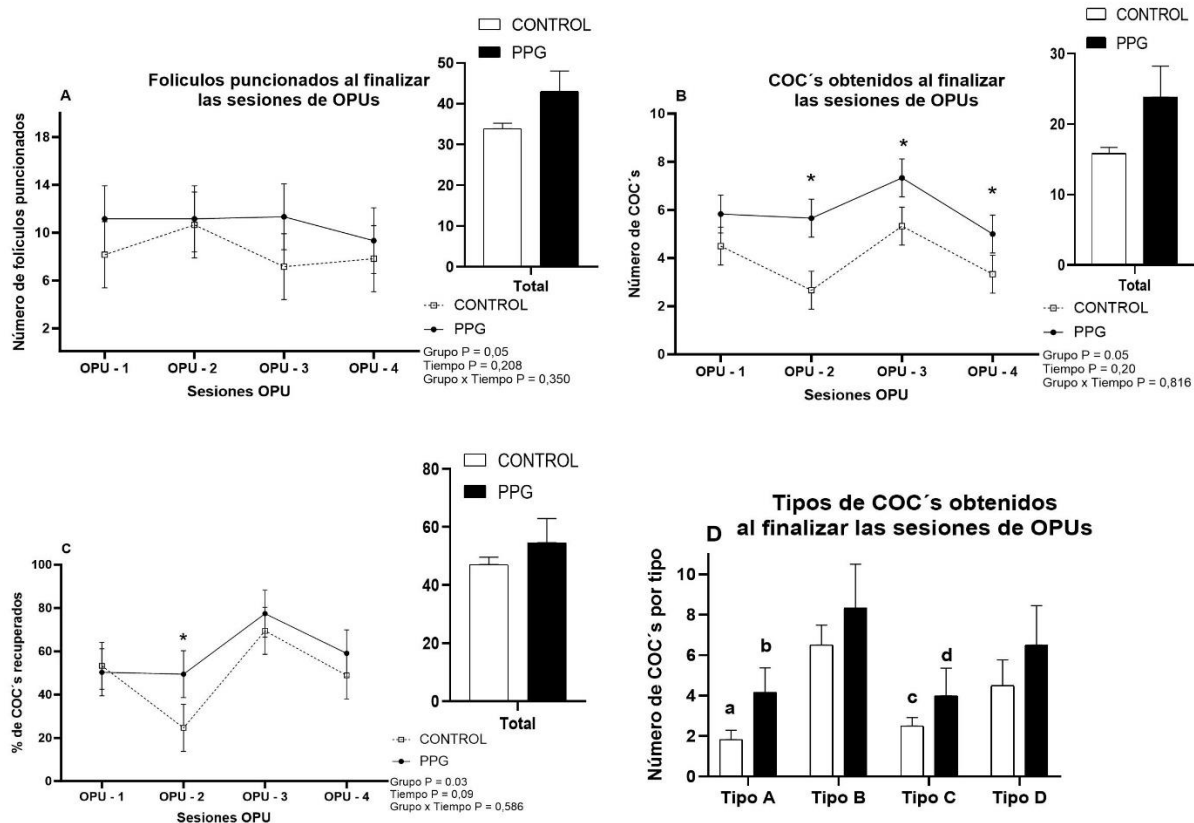


Figura 6: Número de folículos puncionados (Panel A), cantidad de COC's obtenidos (Panel B), porcentaje de recuperación de COC's (Panel C) y tipos de COC's (Panel D) obtenidos al finalizar todas las sesiones de OPU en vaquillas que recibieron propilenglicol (barras negras) o agua (control; barras blancas) a través del periodo de estudio. Los datos se muestran con el valor medio \pm error estándar de la media (EEM). Diferentes literales indican diferencia estadística significativa entre grupos (a – b $p < 0,02$; c – d $p < 0,005$). Asteriscos indican diferencia estadística significativa entre grupos ($p < 0,05$).

5.3. Efecto de la administración de propilenglicol sobre los cambios del perfil metabólico a través del periodo de estudio

No se encontró efectos de la administración de PPG al inicio y al día 13 del periodo de estudio sobre los niveles plasmáticos de glucosa (Figura 7A y 7B); sin embargo, en el día 25 de la administración de PPG se observó un incremento en la concentración plasmática de glucosa comparada con el grupo control (Figura 7C).

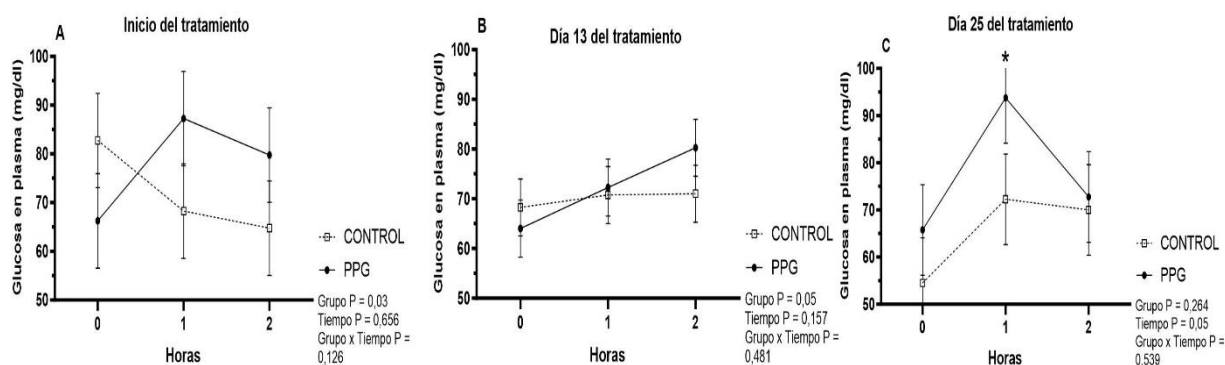


Figura 7: Concentración plasmática de glucosa (mg/dl) en vaquillas que recibieron una dosis de propilenglicol (línea negra) o agua (control; línea punteada) a través del periodo de estudio (0=antes, 1= después de una hora y 2= después de dos horas de la administración de propilenglicol y agua a los grupos PPG y CON respectivamente. Los datos se muestran con el valor medio. Asteriscos indican diferencia estadística significativa entre grupos ($p < 0,05$).

No se encontró efecto de la administración de PPG sobre las concentraciones plasmáticas de colesterol HDL (Figura 8A, 8B y 8C) durante el inicio y al día 25; sin embargo, en el día 13 de la administración de PPG se indujo una disminución en la concentración plasmática de colesterol HDL comparada con el grupo control (Figura 8B). No se encontró una relación entre la administración o no de PPG sobre las concentraciones séricas de colesterol LDL al día 13 y 25 del estudio, pero si al inicio del estudio (Figura 8D, 8E y 8F), y en los niveles plasmáticos de colesterol total se encontró diferencia entre grupos al día 13 (Figura 8G, 8H y 8I).

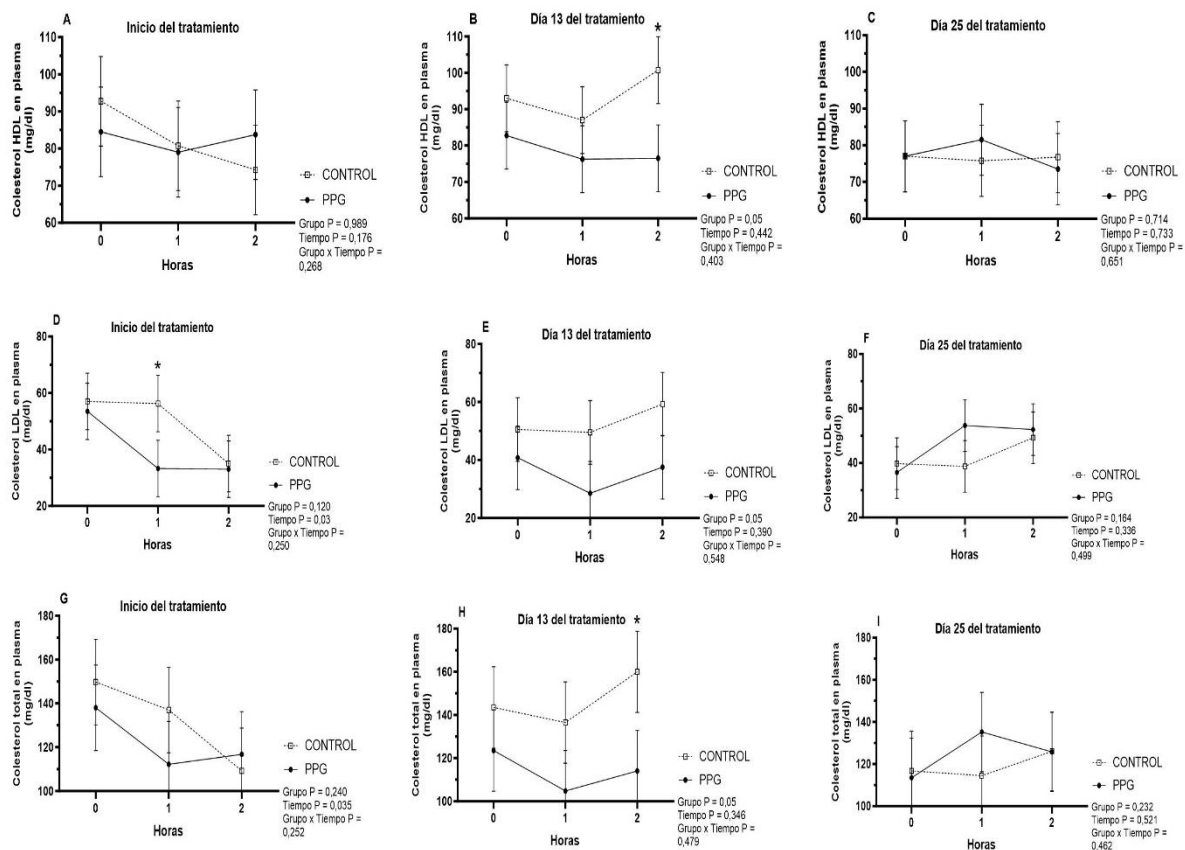


Figura 8: Concentración plasmática de: colesterol HDL (panel A, B y C; mg/dl); colesterol LDL (panel D, E y F; mg/dl) y colesterol total (panel G, H e I; mg/dl) en vaquillas que recibieron una dosis de propilenglicol (línea negra) o agua (control; línea punteada) a través del periodo de estudio. Los datos se muestran con el valor medio. Asteriscos indican diferencia estadística significativa entre grupos ($p < 0,05$).

La concentración plasmática de triglicéridos se mantuvo estable y similar entre ambos grupos durante el periodo de estudio (Figura 9A, 9B y 9C). Por otro lado, se pudo observar una diferencia estadística de los niveles plasmáticos de nitrógeno ureico en sangre al inicio y al día 13 del estudio; pero no existió diferencia estadística entre grupos en los niveles plasmáticos de nitrógeno ureico, al día 25 del estudio (Figura 9D, 9E y 9F).

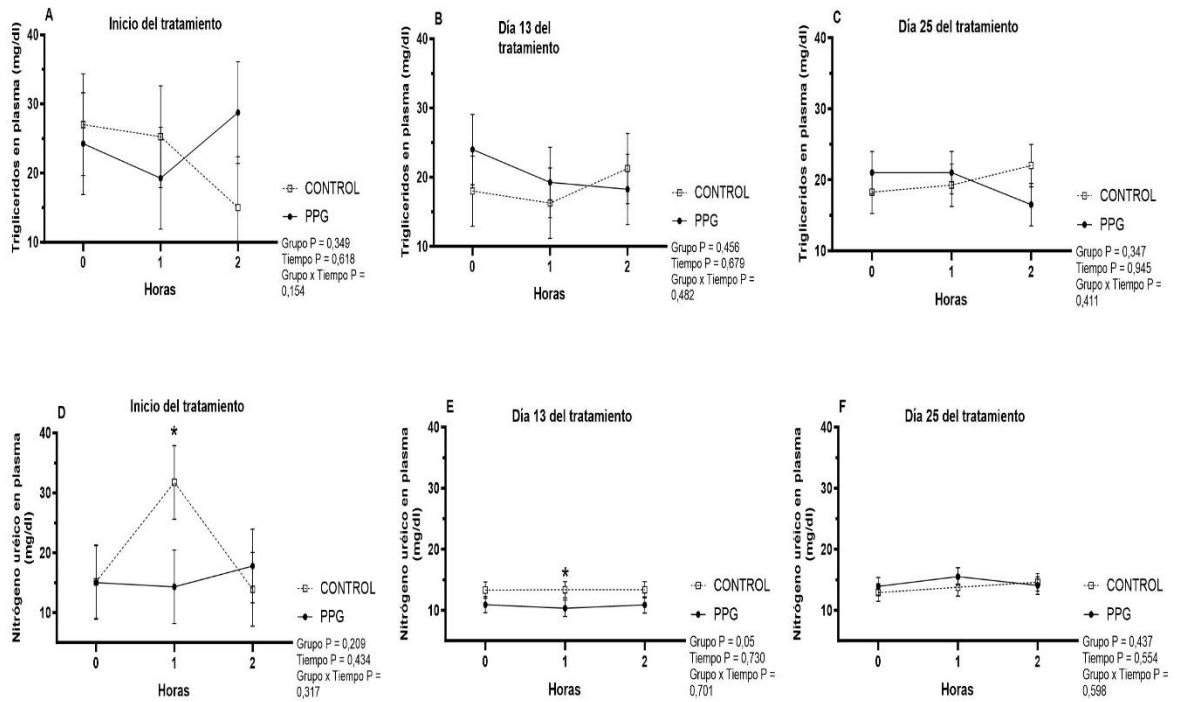


Figura 9: Concentración plasmática de: triglicéridos (panel A, B y C; mg/dl) y de nitrógeno ureico (panel D, E y F; mg/dl) en vaquillas que recibieron una dosis de propilenglicol (línea negra) o agua (control; línea punteada) a través del periodo de estudio. Los datos se muestran con el valor medio. Asteriscos indican diferencia estadística significativa entre grupos ($p < 0,05$).

6. Discusión

Los resultados de la presente investigación sugieren que la administración de propilenglicol modifica la fisiología ovárica a través del aumento de folículos totales, y esto fue observado durante cada sesión de OPU en vaquillas del altiplano ecuatoriano (Figura 4D). Este aumento del número de folículos en cada sesión de OPU fue independiente del tamaño de estos; es decir, la administración de PPG no afectó el tamaño folicular, a pesar de que se pudo evidenciar que los folículos medianos (5-8 mm) aumentaron en número en la segunda y tercera sesión de OPU respecto al grupo control. Esto difiere de (Falls, 2012) donde al aplicar PPG a vacas Holstein sólo observó un aumento en el conteo de folículos totales, y no en las diferentes clases de tamaño de los folículos.

Los resultados de nuestro trabajo concuerdan con los reportados por (Adamiak et al., 2005), quienes usaron el mismo compuesto energético en la ración de vacas lecheras y reportaron un mayor número de folículos especialmente de tamaño mediano (4-8 mm), aunque por otro lado también aumentaron los folículos grandes (>8 mm), acompañados a esto con una mayor tasa de crecimiento diario que al final determinó que el tratamiento ocasionó un aumento del diámetro de los folículos preovulatorios. Además otra investigación reporta no solo un incremento en el número de estos folículos sino de folículos pequeños (2-3 mm) en vaquillas (Gamarra et al., 2015).

Según los datos obtenidos por (Gamarra et al., 2014), indica la administración de PPG tiene un efecto directo sobre el estado energético de la vaca, mejorando la actividad ovárica ya que toda la energía extra generada por la administración de PPG es utilizada por el eje que regula la secreción de hormonas, que favorece aumentando el número de folículos ováricos al reducir la atresia de los mismos, porque a nivel sanguíneo se mantienen los niveles adecuados de hormonas y biomarcadores encargados del desarrollo folicular. Este aumento en la cantidad de folículos se debe quizás a un mayor reclutamiento de folículos o a una menor tasa de atresia durante una onda de crecimiento folicular previa sincronización del ciclo estral (Umeki et al., 2012). En el presente estudio, el suministro de energía aumentó el reclutamiento de folículos, similar a lo reportado en anteriores estudios en novillas (Contoh et al., 2019).

Se observó que a partir de la segunda sesión de OPU el número de folículos que entraron en fase de crecimiento aumentaron en respuesta al suministro de propilenglicol y este efecto se estabilizó hasta la cuarta sesión, sin considerar el tamaño de estos. Estos resultados difieren a los reportados en otro estudio en el que dilucida que no hay ningún efecto sobre el número y tamaño folicular (Mohammed et al., 2021). La diferencia entre los resultados de nuestra investigación y los reportados por (Mohammed et al., 2021) puede estar relacionado al hecho de que ellos utilizaron una dosis considerablemente menor (100 ml/animal de Propilenglicol) a la usada en nuestro estudio.

El incremento del número de folículos está relacionado directamente con el aumento de los niveles de la hormona foliculoestimulante (FSH), que promueve el reclutamiento de un mayor número de folículos que responden a la acción de esta hormona durante un periodo prolongado (Hena Restrepo, 2001; Umeki et al., 2012). La función del incremento de los niveles de energía sobre el aumento en la pulsatilidad de esta gonadotropina aún está por dilucidar, pero trabajos llevados a cabo *in vitro* indican que las células de la teca interna y granulosa de folículos en reclutamiento podrían tener una mayor sensibilidad al efecto de esta hormona, a través de un cambio del sistema IGF-1 ovárico que podría aumentar la sensibilidad (Armstrong et al., 2003).

A pesar de haber obtenido en nuestro estudio un efecto del PPG sobre el número total de folículos, el número total de ovocitos aspirados y recolectados no difirió entre el grupo PPG y el grupo control, resultados que concuerdan con los reportados por (Webb et al., 2016). Esto podría indicar que la nutrición afecta el reclutamiento de folículos pequeños, pero no la selección y dominancia de estos (Armstrong et al., 2001), y que podría relacionarse con una baja estimulación de la hormona luteinizante (LH). Se conoce que la secreción de esta hormona es dependiente del estado energético del animal (Freret et al., 2003; Kathryn & Byrd, 2021); sin embargo, el PPG no tuvo un efecto sobre el tamaño de los folículos, resultados que difieren con (Robinson et al., 2002), quienes reportan un incremento en el tamaño de los folículos en vacas posparto con suplemento energético (ácidos grasos poliinsaturados + propilenglicol), por lo que sería necesario un objetivo que demuestre cuales son los patrones de secreción de la LH cuando se usan tratamientos energéticos como el PPG.

En relación con la calidad de los ovocitos recuperados, la administración de PPG no mejoró la calidad de estos con respecto al grupo control. Se ha demostrado que la calidad de los ovocitos puede ser afectado cuando los niveles plasmáticos de insulina se mantienen elevados en periodos largos, además podría repercutir sobre el desarrollo embrionario (Kaewlamun et al., 2020; Hackbart et al., 2017; Wiltbank et al., 2014). Las dietas glucogénicas (CNF, propilenglicol, etilenglicol, glicerol, etc.) producen un estado de hiperinsulinemia, que a su vez influye negativamente sobre la calidad de los ovocitos debido a que la conversión del PPG a propionato estimula la liberación de un pico de insulina pancreática antes del pico de la glucosa lo que provoca una interferencia en la disponibilidad de glucosa en las células blanco (Kaewlamun et al., 2020). Es por eso que se debe administrar cualquier aditivo energético de manera progresiva durante un periodo de adaptación para que las concentraciones de insulina aumenten de forma paulatina conjuntamente con los de glucosa (Armstrong et al., 2001).

Estudios *in vitro* e *in vivo* (Ponsart et al., 2014), han demostrado que el aumento irregular, crónico y no controlado de insulina ejerce un efecto sobreestimulante a nivel ovárico, produciendo ovocitos de mala calidad; es decir, en lugar de aumentar la calidad de los ovocitos los niveles altos de glucosa como consecuencia de la adición de propilenglicol provocaron un efecto contrario a lo esperado. Se ha demostrado que los niveles altos de insulina reducen la expresión de los receptores GLUT-4 (transportador de glucosa presente en las células de la granulosa y teca) y no permite el paso de la glucosa a las células del cúmulo oóforo (Mu et al., 2013), se sabe que el GLUT-4 desempeña un papel de apoyo en el transporte de glucosa junto con GLUT-1 y GLUT-3, que sirven como transportadores primarios de glucosa (Abbas et al., 2020).

Los transportadores GLUT-1 y GLUT-3 se expresan en niveles sustanciales y similares en las células foliculares, se sabe que niveles altos de insulina no inducen directamente cambios en la expresión de estos transportadores, sino que la expresión de estos está influenciada principalmente por la etapa de desarrollo folicular, la maduración y la concentración de hormonas esteroideas como el estrógeno (E_2) (Armstrong et al., 2003). Probablemente estos factores desempeñen un papel crucial en el mantenimiento de los niveles de expresión de GLUT-1 y GLUT-3 para apoyar la absorción de glucosa en las células foliculares durante las diferentes etapas del ciclo estral, alterando el eje glucosa/IGF-1 lo que no permite una adecuada utilización de la glucosa (Armstrong et al., 2003).

El exceso de energía aumenta la producción de radicales libres (autooxidación de la glucosa), “Especies Reactivas del Oxígeno” (ROS, por sus siglas en inglés), que ocasionan daños oxidativos a nivel celular, interfieren en el metabolismo (fosforilación oxidativa, β -oxidación y glucólisis) de los carbohidratos, alteran la acción de la insulina en los tejidos periféricos y perturban las funciones de las células beta pancreáticas (Molina-Coto et al., 2018).. Por lo tanto; una sobrecarga energética por una sobrealimentación y/o a la administración de algún compuesto energético (propilenglicol), no afecta directamente el crecimiento de los folículos preantrales (Tasaki et al., 2015), pero si podría alterar la calidad de los ovocitos (Wiltbank et al., 2014). Por cualquiera de las vías antes descritas; es decir, niveles altos de energía en la hembra ocasiona un perjuicio, ya que se conoce que la interacción entre células foliculares y el ovocito no depende únicamente del nivel de energía sino también de la interacción con el medio que rodea al ovocito (entorno paracrino) (Molina-Coto et al., 2018).

En un segundo apartado de este trabajo se evaluó los efectos del tratamiento a base de propilenglicol sobre las concentraciones plasmáticas de glucosa, triglicéridos (TAG), colesterol LDL, colesterol HDL, colesterol total y nitrógeno ureico en sangre (BUN) y los posibles vínculos con la actividad ovárica. Durante el periodo experimental que se suplementó propilenglicol se pudo observar un aumento de los niveles plasmáticos de glucosa al día 25 del experimento. Sin embargo, se registró una elevación transitoria de nivel glucémico a partir de la primera hora post-administración (Figura 7), aunque los niveles plasmáticos de glucosa volvieron a la normalidad a la segunda hora.

El incremento en la concentración plasmática de glucosa observado en el presente experimento probablemente se debió a la alta tasa de absorción y fermentación (propionato, propanal y propanol) del propilenglicol a nivel del rumen (o intestinal por paso directo), lo que ocasiona una estimulación de la gluconeogénesis hepática (vía lactaldehído) o incremento de glucosa por la absorción de ácido propiónico (vía oxalacetato) para la disponibilidad de energía de manera inmediata para todos los tejidos (Neira-Rivera et al., 2023). Por lo tanto, la alta tasa de absorción y fermentación, así como las diferentes vías metabólicas que tiene el PPG hasta su posterior conversión a glucosa lo hacen un compuesto de gran versatilidad, a diferencia del glicerol que tiene un metabolismo más lento y desde luego modifica los niveles de los metabolitos glucogénicos más tardíamente (Nagwa et al., 2020).

En nuestro estudio se divisa que el nivel más alto de glucosa se observó dentro de la primera hora para luego empezar a disminuir a partir de la segunda hora, estos resultados concuerdan con los reportados por (Alon et al., 2020; Chung et al., 2009). La regulación de la glucosa plasmática después de alcanzar el pico más alto se debe a la acción de las células β -pancreáticas, que se encargan de secretar insulina para coordinar la homeostasis sistémica de la glucosa en respuesta a niveles elevados de la misma y de otros metabolitos en sangre (leptina, grelina, adiponectina, etc.). Esta homeostasis está impulsada por la sensibilidad del tejido a la insulina, que normalmente indica la eficiencia de una concentración determinada de insulina para normalizar los niveles de glucosa en sangre (Pessoa et al., 2023).

El mecanismo antes mencionado está bien descrito, la respuesta de los animales va a depender en gran medida de la dosis y también de la forma en la que se administra el suplemento energético (PPG). Es así que la administración de un compuesto glucosídico (glicerol o propilenglicol) en vacas y ovejas ocasiona que los niveles de glucosa en sangre se eleven a su punto máximo entre 3 a 5 horas (Lomander et al., 2012); mientras que, la administración oral de propilenglicol ocasiona un aumento en los niveles de glucosa a 1 hora (Rewatkar & Padole, 2019), y de glicerol entre 2 a 3 horas (Altaş et al., 2023) de su administración.

La glucosa estimula la secreción de las hormonas foliculoestimulante (FSH) y luteinizante (LH) (Sierra, 2016; Lagos, 2019), la FSH y LH tienen la capacidad de estimular la vía fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K) y a la proteína quinasa B (AKT) que influyen de manera sinérgica sobre el complejo rapamicina 1 (mTOR). Este complejo aumenta la proliferación de células de la granulosa en el folículo, favorece la esteroidogénesis (E_2), interviene en la foliculogénesis, aumenta la supervivencia del cuerpo lúteo y ejerce una acción sobre la activación y maduración de los ovocitos. Por lo tanto, un incremento regular y controlado de energía, genera modificaciones en el conteo folicular al aumentar los folículos en crecimiento, pero no los primordiales; además, actúa reduciendo la atresia o madurando los ovocitos, pero no interviene en la etapa de dominancia (Wang et al., 2023), lo que puede explicar los resultados de nuestro trabajo; es decir, un mayor número de folículos indistintamente de su tamaño.

Los niveles de colesterol HDL, LDL y total fueron afectados por la administración oral de propilenglicol en vaquillas durante el periodo de estudio. Los resultados reportados por (Clvelek et al., 2013) indican que después de la suplementación de PPG al vacuno lechero los niveles de LDL plasmático eran más bajos respecto al grupo control, resultados que están en concordancia con los nuestros. Así mismo concuerdan con (Ghaffar et al., 2018) quienes suplementaron PPG a novillas búfalas Nilli-Ravi y encontraron que los niveles plasmáticos de colesterol total disminuyeron después de la administración oral de PPG. También difieren de (Osorio & Enrique, 2012) quienes aseguran que administrar un suplemento energético aumentó los niveles del colesterol HDL. Es necesario tener en cuenta que el colesterol HDL no es tan importante para el ovocito, pero si lo es el colesterol LDL por su gran adherencia que lo hace permeable al folículo y facilita el ingreso al ovocito (Oquendo et al., 2013).

Se conoce que el colesterol es una fuente de energía y participa en varios procesos fisiológicos, ya que por acción de la lecitina colesterol acyl transferasa (LCAT) conduce a la formación de la lipoproteína de alta densidad o HDL (Galvis et al., 2007). El metabolismo del colesterol es controlado por la insulina, quien tiene la capacidad de activar la lipoproteína lipasa que cataliza la degradación de los triglicéridos transportados por los quilomicrones disminuyendo la trigliceridemia y colesterolemia (Corporal & Patologías, 2010). En resumen, a pesar de que no se evidenció un efecto sobre los niveles plasmáticos de estos metabolitos, se pudo evidenciar que siempre los valores de estos se encontraban disminuidos en el grupo PPG, aunque estos valores estaban dentro de los niveles fisiológicos (Colesterol LDL – 20 a 80 mg/dl); (Colesterol HDL – 60 a 90 mg/dl) (Zulia et al., 2011) y (Colesterol Total – 140 a 180 mg/dl) (Ligia et al., 2017).

El metabolismo de los TAG no se vio afectado por la suplementación de PPG en vaquillas durante todo el estudio, ya que los niveles plasmáticos de este metabolito siempre estuvieron dentro de los valores fisiológicos (20 - 40 mg/dl) (Ligia et al., 2017). Los valores de nuestro estudio concuerdan con los reportados por (Mikuła et al., 2008), quienes trabajaron con 4 vacas Holstein de segunda lactancia mezclando el PPG en el alimento (TMR), y cuyos resultados fueron similares al grupo control. No obstante, en otros trabajos realizados en 15 vacas preñadas sanas de entre 3 a 4 años de edad, se observó que la administración de dietas glucogénicas (100 y 200 ml de PPG) afectó los niveles séricos de lípidos totales y TAG. Las concentraciones de estos tendieron a disminuir en comparación al grupo control (sin PPG) (Ayoub et al., 2015); resultados que concuerdan con otros estudios (Rewatkar & Padole, 2019; Butler et al., 2006).

Posiblemente la razón por la cual descienden los niveles de triglicéridos a nivel sanguíneo es por la acción del propilenglicol, al actuar como compuesto glucogénico e insulínogénico reduce la liberación de ácidos grasos no esterificados (NEFA) al torrente sanguíneo y evita que se acumulen lípidos (TAG y colesterol) a nivel hepático (Rukkwamsuk & Panneum, 2010); (Pickett et al., 2003). En base a lo antes estimado, la no variación de los niveles de TAG en nuestro estudio se puede atribuir principalmente a que los animales mantuvieron siempre una CC estable tanto en el grupo PPG como en el control (Kaniamuthan et al., 2023).

Lo antes manifestado contradice los resultados de (Mikuła et al., 2020) donde observó que aplicar 400 ml de PPG en vacas aumentó los niveles de triglicéridos y colesterol total; es decir, estos metabolitos estuvieron influenciados por la ingesta energética. Sin embargo, el aumento de glucosa es gradual en el organismo, ya que existe mecanismos reguladores (hormonas) que se encargan de distribuir los nutrientes y no siempre la energía actúa de la misma manera (se utiliza o se almacena) (Hidalgo et al., 2004), lo cual depende de algunos parámetros como la CC, composición de la dieta, nivel de producción, etc. (Lénárt et al., 2023).

Los rumiantes pueden catabolizar proteínas para cubrir las demandas de energía, ocasionando que los niveles plasmáticos de metabolitos como el nitrógeno ureico en sangre (BUN) se eleven. Curiosamente como era de esperarse, los niveles de este metabolito no se vieron afectados por la administración de PPG y estos valores se mantuvieron bajos en ambos grupos experimentales, y siempre dentro del rango fisiológico (10 – 20 mg/dl) (AndrewC. Hammond, 1998). Este hallazgo es similar a los resultados reportados en vacas y vaquillas de aptitud lechera (Hidalgo et al., 2004), donde se observó que no existen cambios y concluyen que el nivel plasmático de este metabolito podría alterarse cuando la proteína de la dieta cambia, lo que estaría en concordancia con nuestros resultados, dado que los niveles de proteína de la dieta administrada a nuestras vaquillas siempre estuvieron entre los requerimientos diarios (0,99 kg de proteína bruta o PB) (Ramírez, 2013).

Como ya se mencionó, la modificación de la fracción proteica de la dieta ocasiona un incremento en los niveles del BUN. Los productos finales del metabolismo de las proteínas son: urea, amoníaco, ácido úrico y creatinina, compuestos que se elevan producto de un incremento en la degradación de proteínas, que no solo es ocasionada al aumentar su consumo, sino también al disminuirla porque el organismo incrementa el catabolismo de las proteínas corporales (Cahuascanco-quispe, 2019). Existe evidencia que el PPG causa descenso del BUN, y trabajos como el de (Ghaffar et al., 2018) describieron un descenso de los niveles de BUN en búfalas Nilli-Ravi que recibieron propilenglicol vía oral, lo que estaría en discrepancia con nuestros resultados, ya que esta no era dieta de origen proteico.

7. Conclusiones

La administración oral de propilenglicol a vaquillas Holstein ocasionó un aumento en el número total de folículos ováricos, indistintamente del tamaño de estos.

La administración oral de propilenglicol a vaquillas Holstein no afectó las características morfológicas (calidad) de los ovocitos obtenidos por aspiración folicular ecoguiada.

La administración oral de propilenglicol a vaquillas Holstein ocasionó variabilidad del metabolismo glucídico (glucosa), lipídico (excepto los TAG) y proteico a lo largo del periodo experimental.

8. Referencias

- Abbas, Z., Sammad, A., Hu, L., Fang, H., Xu, Q., & Wang, Y. (2020). Glucose metabolism and dynamics of facilitative glucose transporters (Gluts) under the influence of heat stress in dairy cattle. *Metabolites*, *10*(8), 1–19. <https://doi.org/10.3390/metabo10080312>
- Adamiak, S. J., Mackie, K., Watt, R. G., Webb, R., & Sinclair, K. D. (2005). Impact of nutrition on oocyte quality: Cumulative effects of body composition and diet leading to hyperinsulinemia in cattle. *Biology of Reproduction*, *73*(5), 918–926. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.105.041483>
- Aguilar, U. (2016). *Ovulation rate, prolificacy and pregnancy rate in goats treated with oral glycerol*. *3*(1). <https://doi.org/10.21753/vmoa.3.1.360>
- Alon, T., Rosov, A., Lifshitz, L., Dvir, H., Gootwine, E., & Moallem, U. (2020). The distinctive short-term response of late-pregnant prolific ewes to propylene glycol or glycerol drenching. *Journal of Dairy Science*, *103*(11), 10245–10257. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18227>
- Altaş, T., Abdullahoğlu, E., Bigen, O., Orman, A., & Gençoğlu, H. (2023). *Original Research Article The Effects of Different Glucose Precursors on Rumen and Blood Parameters in Dairy Cows*. *16*(48), 1–6. <https://uludag.edu.tr/dosyalar/jbes/48/1.pdf>
- Andr, C., & Herrera, M. (2022). *Principios de Fisiología Reproductiva Animal*. <http://cimogsys.esPOCH.edu.ec/direccion-publicaciones/public/docs/books/2023-01-18-135653-L2022-028.pdf>
- AndrewC. Hammond. (1998). Use of BUN and MUN as Guides for Protein and Energy in Cattle. *USDA, ARS, Subtropical, Agricultura Research Station, Brooksville (Florida)*. <https://www.redalyc.org/pdf/4499/449953020007.pdf>
- Armstrong, D. G., Gong, J. G., & Webb, R. (2003). *Interactions between nutrition and ovarian activity in cattle: physiological, cellular and molecular mechanisms*. 403–414. <https://doi.org/10.1530/BIOSCIPROCS.5.030>
- Armstrong, D. G., McEvoy, T. G., Baxter, G., Robinson, J. J., Hogg, C. O., Woad, K. J., Webb, R., & Sinclair, K. D. (2001). Effect of dietary energy and protein on bovine follicular dynamics and embryo production in vitro: Associations with the ovarian insulin-like growth factor system. *Biology of Reproduction*, *64*(6), 1624–1632. <https://doi.org/10.1095/biolreprod64.6.1624>

- Astiz, S., Romero-aguirregomezcorra, J., & Poto, A. (2012). *Producción de embriones in vitro en el bovino: descripción de la técnica y ejemplos de su aplicación en España*. 2–6. <https://www.revistafrisona.com/portals/0/articulos/n188/a18802.pdf>
- Ayala Guanga, L., Samaniego Campoverde, J., Argudo Garzón, D., Perea Brugal, M., Perea Ganchou, F., Rodas Carpio, E., & Nieto Escandón, P. (2020). El intervalo de tiempo entre la estimulación ovárica con FSH/LH y la colecta afecta la cantidad, calidad y capacidad de desarrollo de los ovocitos recuperados de novillas criollas ecuatorianas. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 31(1), e17571. <https://doi.org/10.15381/rivep.v31i1.17571>
- Ayoub, A., Sabah, M., & El-Shorbaji, A. (2015). Effect of propylene glycol supplementation to feed of dairy cows on some biochemical measurements. *Egyptian Journal of Chemistry and Environmental Health*, 1(1), 899–913. <https://doi.org/10.21608/ejceh.2015.253917>
- Balarezo-Urresta, L., Garcia-Diaz, J., & Noval-Artiles, E. (2020). Corporal condition and restart of the ovarian postpartum on Holstein cows in Ecuador. *Revista Mvz Cordoba*, 25(3). <https://doi.org/10.21897/rmvz.1859%0ACorporal>
- Bindari, Y. R., Shrestha, S., Shrestha, N., & Gaire, T. N. (2013). Effects of nutrition on reproduction- A review. *Pelagia Research*, 4(1), 421–429. [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)31125-7](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)31125-7)
- Bisinotto, R. S., Greco, L. F., Ribeiro, E. S., Martinez, N., Lima, F. S., Staples, C. R., Thatcher, W. W., & Santos, J. E. P. (2012). Influences of nutrition and metabolism on fertility of dairy cows. *Anim Reprod*, 9(3), 260–272. <https://www.animal-reproduction.org/article/5b5a6057f7783717068b46e5>
- Bloom, N., & Reenen, J. Van. (2013). Características funcionales y estructurales de las principales glándulas endócrinas en los bovinos. *NBER Working Papers*, 89. <http://www.nber.org/papers/w16019>
- Butler, S. T., Pelton, S. H., & Butler, W. R. (2006). Energy balance, metabolic status, and the first postpartum ovarian follicle wave in cows administered propylene glycol. *Journal of Dairy Science*, 89(8), 2938–2951. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72566-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72566-8)
- Cahuascanco-quispe, B. (2019). *Efecto de la suplementación de proteína y energía sobre la producción láctea, densidad, sólidos totales, grasa y nitrógeno ureico en la leche de vacas Brown Swiss en condiciones hipobáricas naturales*. 30(4), 1504–1514. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v30i4.17168>

- Castañeda-Gutiérrez, E., Pelton, S. H., Gilbert, R. O., & Butler, W. R. (2009). Effect of peripartum dietary energy supplementation of dairy cows on metabolites, liver function and reproductive variables. *Animal Reproduction Science*, 112(3–4), 301–315. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.04.028>
- Castañeda, A., Jesús, M., Hernández, V., Gómez, A., Valdez, J. I., Humberto, H., Huerta, V., Carbono, A. D. E., La, E. N., Aérea, B., & Plantación, D. E. U. N. A. (2005). *Influencia de la nutrición en los programas de sincronización de estros, superovulación y transferencia de embriones en ovejas*. 39, 107–116. <http://colposdigital.colpos.mx:8080/xmlui/handle/10521/96>
- Chagas, L. M., Bass, J. J., Blache, D., Burke, C. R., Kay, J. K., Lindsay, D. R., Lucy, M. C., Martin, G. B., Meier, S., Rhodes, F. M., Roche, J. R., Thatcher, W. W., & Webb, R. (2007). Invited review: New perspectives on the roles of nutrition and metabolic priorities in the subfertility of high-producing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90(9), 4022–4032. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-852>
- Chibisa, G. E., Gozho, G. N., Van Kessel, A. G., Olkowski, A. A., & Mutsvangwa, T. (2008). Effects of peripartum propylene glycol supplementation on nitrogen metabolism, body composition, and gene expression for the major protein degradation pathways in skeletal muscle in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 91(9), 3512–3527. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0920>
- Chung, Y. H., Girard, I. D., & Varga, G. A. (2009). Effects of feeding dry propylene glycol to early postpartum Holstein dairy cows on production and blood parameters. *Animal*, 3(10), 1368–1377. <https://doi.org/10.1017/S1751731109990292>
- Clivelek, T., Bırdane, F., Kabu, M., Cingi, C. Ç., & Acar, A. (2013). Effects of methionine and lysine on metabolic profile in dairy cattle during periparturient period. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 19(3), 423–432. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2012.7968>
- Contoh, B., Issa, J., Tabares, I., Objek, P. B. B., Hasil, L., Informasi, T., Aradea, Ade Yuliana, H. H., Pattiserlihun, A., Setiawan, A., Trihandaru, S., Fisika, P. S., Sains, F., Kristen, U., Wacana, S., Diponegoro, J., Jawa, S., Indonesia, T., Putra, R. L., Hidayat, B., ... Adhitya Putra, D. K. T. (2019). Efeito da infusao ruminal de propilenoglicol sobre os parametros metabólicos e a prodicao in vitro de embriões de vacas Holandesas. *Rabit: Jurnal Teknologi Dan Sistem Informasi Univrab*, 1(1), 2019. <https://doi.org/10.11606/T.10.2020.tde-10122019-111854>

- Corporal, C., & Patologías, E. P. Y. (2010). *El metabolismo lipídico bovino y su relación con la dieta, condición corporal, estado productivo y patologías asociadas*. 2, 56–66. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1657-95502010000200007
- Falls, S. (2012). *Changes in body condition on oocyte quality and embryo survival*. 269–284. https://beefrepro.org/wp-content/uploads/2020/09/2012ARSBC_21BridgesProceedings.pdf
- Freret, S., Grimard, B., Ponter, A. A., Joly, C., Ponsart, C., & Humblot, P. (2003). *Reduction of body-weight gain enhances in vitro embryo production in overfed superovulated dairy heifers*. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00689>
- Galvis, R. D., Agudelo, D., & Saffon, A. (2007). *Condición corporal , perfil de lipoproteínas y actividad ovárica en vacas Holstein en lactancia temprana*. 20(14), 16–29. <https://doi.org/10.17533/udea.rccp.324108>
- Gamarra, G., Ponsart, C., Lacaze, S., Le Guienne, B., Deloche, M. C., Monniaux, D., & Ponter, A. A. (2014). Short term dietary propylene glycol supplementation affects circulating metabolic hormones, progesterone concentrations and follicular growth in dairy heifers. *Livestock Science*, 162(1), 240–251. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.01.015>
- Gamarra, G., Ponsart, C., Lacaze, S., Le Guienne, B., Humblot, P., Deloche, M. C., Monniaux, D., & Ponter, A. A. (2015). Dietary propylene glycol and in vitro embryo production after ovum pick-up in heifers with different anti-Müllerian hormone profiles. *Reproduction, Fertility and Development*, 27(8), 1249–1261. <https://doi.org/10.1071/RD14091>
- Ghaffar, A., Jamil, H., Zubair, M., Farooq, M., Murtaza, A., & Ullah, Q. (2018). Effect of dietary supplementation with propylene glycol on blood metabolites and hormones of nili-ravi buffalo heifers. *Proceedings of the Pakistan Academy of Sciences: Part B*, 55(3), 55–59. <https://ppaspk.org/index.php/PPAS-B/article/view/164>
- Granja, S., Y., Cerquera, G. J., & Fernández, B. O. (2012). Factores nutricionales que interfieren en el desempeño reproductivo de la hembra bovina. *Revista Colombiana de Ciencia Animal - RECIA*, 4(2), 458. <https://doi.org/10.24188/recia.v4.n2.2012.227>
- Hackbart, K. S., Bender, R. W., Carvalho, P. D., Vieira, L. M., Dresch, A. R., Guenther, J. N., Gencoglu, H., Nascimento, A. B., Shaver, R. D., & Wiltbank, M. C. (2017). Effects of propylene glycol or elevated luteinizing hormone during follicle development on ovulation, fertilization, and early embryo development. *Biology of Reproduction*, 97(4), 550–563. <https://doi.org/10.1093/biolre/iox050>

- Hasler, J. F. (1981). *Embryo Transfer and In Vitro Fertilization*.
<https://doi.org/10.1002/9780470390290.ch8>
- Henao Restrepo, G. (2001). Reactivación ovárica postparto en bovinos. Revisión. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 54(1 y 2), 1285–1302.
<https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/36661>
- Hernández, J. (2002). Causas y tratamientos de la infertilidad en la vaca lechera. *Departamento De Reproducción. Facultad De Medicina Veterinaria Y Zootecnia*, 1–10.
<https://ganaderiasos.com/wp-content/uploads/2016/03/causas-y-tratamientos-de-la-infertilidad-en-la-vaca-lechera.pdf>
- Hidalgo, C. O., Gómez, E., Prieto, L., Duque, P., Goyache, F., Fernández, L., Fernández, I., Facal, N., & Díez, C. (2004). Pregnancy rates and metabolic profiles in cattle treated with propylene glycol prior to embryo transfer. *Theriogenology*, 62(3–4), 664–676.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.11.006>
- Kaewlamun, W., Grimard, B., Duvaux-Ponter, C., & Ponter, A. A. (2020). Kick-starting ovarian cyclicity by using dietary glucogenic precursors in post-partum dairy cows: a review. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 8(1), 39–48.
<https://doi.org/10.1080/23144599.2020.1773188>
- Kaniamuthan, S., Manimaran, A., Kumaresan, A., Wankhade, P. R., Karuthadurai, T., Sivaram, M., & Rajendran, D. (2023). Biochemical Indicators of Energy Balance in Blood and Other Secretions of Dairy Cattle: A Review. *Agricultural Reviews, Of*.
<https://doi.org/10.18805/ag.r-2571>
- Kathryn, M., & Byrd, H. (2021). *Serial measurements of circulating glucose and luteinizing hormone concentrations in lactating dairy cattle*. <http://hdl.handle.net/10919/104678>
- Lagos, F. A. V. (2019). La energía y su importancia en el desempeño reproductivo de vacas lecheras. *Boletín Mensual Insumos y Factores Asociados a La Reproducción Agropecuaria*, 14(2), 55.
<https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1464&context=zootecnia>
- Lénárt, L. E. A., Horváth, A., Kis, T., Buják, D., & Szenci, O. (2023). *Effect of postpartum drenching on plasma parameters of cows at a large-scale dairy farm*.
<https://doi.org/10.1556/004.2023.00921>
- Ligia, M., Augusto, E., Cristina, M., Ladino-romero, E. A., & Hernández-martínez, M. C. (2017).

Indicadores de bioquímica sanguínea en bovinos suplementados con Cratylia argentea y Saccharomyces cerevisiae. 40. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=269158172008>

Linn, J. (2001). Necesidades Nutritivas Del Ganado Vacuno Lechero: NRC-2001 Necesidades Nutritivas Del Ganado Vacuno Lechero: Resumen De Las Normas Del NRC (2001). *XVII Curso de Especialización*, 1–14. http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_agronomia/NRC_vacunos.pdf

Lomander, H., Frössling, J., Ingvarsen, K. L., Gustafsson, H., & Svensson, C. (2012). Supplemental feeding with glycerol or propylene glycol of dairy cows in early lactation- Effects on metabolic status, body condition, and milk yield. *Journal of Dairy Science*, 95(5), 2397–2408. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4535>

Luis, A., & Jorge, S. (2017). *Evaluación de ovocitos recuperados por Ovum Pick Up (OPU) en tiempos diferentes , luego de la estimulación ovárica con FSH-LH (Pluset®) en vaquillas Criollas.* [http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/27820/1/Trabajo de Titulación.pdf](http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/27820/1/Trabajo%20de%20Titulaci%C3%B3n.pdf)

Mariela, S. L. (2014). Caracterización de las alteraciones macroscópicas del aparato genital de hembras bovinas. In *Lincoln Arsyad* (Vol. 3, Issue 2). <http://journal.stainkudus.ac.id/index.php/equilibrium/article/view/1268/1127>

Martínez, Y. (2013). Análisis De La Morfología Ovocitaria En Bovina Previa a Fecundación in Vitro. *Universidad de Oviedo, España.*, 36. [https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/10651/17398/1/TFM Yaiza Martinez.pdf](https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/10651/17398/1/TFM%20Yaiza%20Martinez.pdf)

Mikuła, R., Nowak, W., Jaśkowski, J. M., Maćkowiak, P., Pruszyńska, E., & Włodarek, J. (2008). Effects of propylene glycol supplementation on blood biochemical parameters in dairy cows. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 52(3), 461–466. https://www.researchgate.net/publication/262934577_Effects_of_propylene_glycol_supplementation_on_blood_biochemical_parameters_in_dairy_cows

Mikuła, R., Pruszyńska-Oszmałek, E., Kołodziejcki, P. A., & Nowak, W. (2020). Propylene glycol and maize grain supplementation improve fertility parameters in dairy cows. *Animals*, 10(11), 1–11. <https://doi.org/10.3390/ani10112147>

Mohammed A.A., Al-Hizab F, Al-Suwaiegh S, Alshaheen T, Kassab A, Hamdon H, W. S. W. 8192-8202. (2021). Effects of propylene glycol on ovarian Restoration, reproductive performance, Metabolic status and milk production of Farafra ewes in subtropics. *Fresen. Environ. Bull*, 30(7), 8192–8202. <https://www.researchgate.net/publication/353393583>

- Molina-Coto, R. E., Arroyo-Oquendo, C., Carballo-Guerrero, D., & Elizondo-Salazar, J. A. (2018). Respuesta a la suplementación con propilenglicol en vacas multiovoladas, para la producción de embriones. *Agronomía Mesoamericana*, 29(3), 519. <https://doi.org/10.15517/ma.v29i3.30837>
- Mu, E. G., Ang, M., & Escorza, Q. (2013). Estrés oxidativo y Diabetes Mellitus. *Rev. Educ. Bioquímica*, 32(2), 51–64. <https://www.scielo.org.mx/pdf/reb/v32n2/v32n2a2.pdf>
- Nagwa et al; (2020). *Efficacy of Different Drenching Regimens of Gluconeogenic Precursors during Transition Period on Body Condition Score, Subclinical Ketosis and Economics of Dairy Cows*. *Dim*, 1–13. <https://doi.org/10.3390/ani10060937>
- Neira-Rivera, E., Velásquez-Penagos, J. G., Cardozo-Cerquera, J. A., Velásquez-Penagos, J. H., Gutiérrez-Parrado, S. L., & Herrera-León, R. F. (2023). Morfometría de ovarios, folículos y su relación con la calidad oocitaria en bovinos. *Agronomía Mesoamericana*, 34(1). <https://doi.org/10.15517/am.v34i1.50156>
- Ninabanda, J. (2018). Impacto del balance energético negativo en vacas lecheras tratadas con somatotropina recombinante bovina. *Revista Veterinaria*, 29(1), 68–72. <https://doi.org/10.30972/vet.2912794>
- Oquendo, G., Fernando, L., Pérez, M., Oquendo, J. G., Londoño, L. F., & Pérez, V. M. (2013). *El perfil metabólico como herramienta de monitoreo de la salud, la producción y la fertilidad en el hato lechero del Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid **. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1794-44492013000100005&script=sci_abstract&tIng=es
- Osorio, H., & Enrique, J. (2012). *Comparación del perfil lipídico por sexo y edad en bovinos*. 1, 25–33. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1657-95502012000100004
- Pariani, A. (2016). *El examen clínico-Reproductivo en hembras bovinas en la región semiárida central*. 9–13. <http://dx.doi.org/10.21043/equilibrium.v3i2.1268>
- Paul, A., Mondal, S., Kumar, S., & Kumari, T. (2020). Body condition scoring in dairy cows - A conceptual and systematic review. *Indian Journal of Animal Research*, 54(8), 929–935. <https://doi.org/10.18805/ijar.B-3859>
- Pessoa, C., Linhares, C., Paula, J., Alves, M., Brener, F., Oliveira, B. De, Silva, A. M., Souza, F. C. De, Cavalcante, C. M., Jos, A., Coutinho, A., & Rondina, D. (2023). *Effect of Short-*

- Term Glycerin Supplementation on Follicle Dynamics and Pregnancy Rate in Goats.* 445–456. <https://doi.org/10.3390/ruminants3040036>
- Pickett, M. M., Piepenbrink, M. S., & Overton, T. R. (2003). Effects of Propylene Glycol or Fat Drench on Plasma Metabolites, Liver Composition, and Production of Dairy Cows During the Periparturient Period 1. *Journal of Dairy Science*, 86(6), 2113–2121. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73801-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73801-6)
- Ponsart, C., Gamarra, G., Lacaze, S., & Ponter, A. A. (2014). Nutritional status of donor cows: Insulin related strategies to enhance embryo development. *Animal Reproduction*, 11(3), 195–198. <https://hal.inrae.fr/hal-02739866>
- Ramírez, R. (2013). Formulacion de raciones para la carne y leche. *Revista Intersedes*, 14(29), 128–153. <https://doi.org/10.15517/isucr.v14i29.13504>
- Rewatkar, H. N., & Padole, R. M. (2019). A complete review on propylene glycol for dairy cows. *International Journal of Veterinary Sciences and Animal Husbandry*, 4(3), 9–16. www.veterinarypaper.com
- Robinson, R. S., Pushpakumara, P. G. A., Cheng, Z., Peters, A. R., Abayasekara, D. R. E., & Wathes, D. C. (2002). *Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on ovarian and uterine function in lactating dairy cows.* 119–131. <https://doi.org/10.1530/rep.0.1240119>
- Rodrigues, F. V, Silva, C. M. G., Lima, I. M. T., Silva, A. M., Fernandes, C. C. L., & Rondina, D. (2015). Effect of oral drenching of glycerin as a source of pre-mating energetic supplementation on reproductive response in goats. *Anim. Reprod.*, V, 12, 890–898. <https://www.animal-reproduction.org/article/5b5a602df7783717068b45f5>
- Rukkwamsuk, T., & Panneum, S. (2010). Effect of oral administration of propylene glycol during periparturient period on blood biochemical parameters and liver triacylglycerol accumulation in postparturient dairy cows. *African Journal of Agricultural Research*, 5(23), 3239–3245. <https://doi.org/10.5897/AJAR10.722>
- Sammad, A., Khan, M. Z., Abbas, Z., & Hu, L. (2022). Major Nutritional Metabolic Alterations Influencing the Reproductive System of Postpartum Dairy Cows. *Metabolites*, 12(1). <https://doi.org/10.3390/metabo12010060>
- Santos, J. E., Bisinotto, R. S., Ribeiro, E. S., Lima, F. S., Greco, L. F., Staples, C. R., & Thatcher, W. W. (2010). Applying nutrition and physiology to improve reproduction in dairy cattle. *Society of Reproduction and Fertility Supplement*, 67, 387–403.

<https://doi.org/10.7313/upo9781907284991.030>

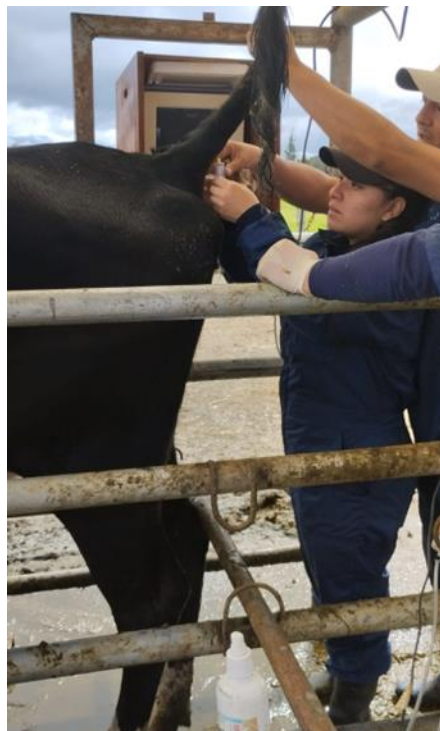
- Santos, J. E. P., Cerri, R. L. A., & Sartori, R. (2008). Nutritional management of the donor cow. *Theriogenology*, 69(1), 88–97. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.09.010>
- Sarmiento, S., & Naulaguari, L. (2019). *Valoración de ovocitos obtenidos mediante Ovum pick-up en vaquillas sometidas a protocolos alternativos de sincronización de la onda folicular y estimuladas con FSH-LH*. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/31787/1/Trabajo-de-titulación.pdf>
- Sequeira, L. T. (2013). Compendio sobre Reproduccion Animal. In *Centro Nacional de Información y Documentación Agropecuaria: Vol. Vol. 1*. <https://cenida.una.edu.ni/textos/nl53t683c.pdf>
- Sierra, L. (2016). Factores nutricionales y térmicos con efectos en la fertilidad de los machos bovinos. *Universidad Cooperativa de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 1–19. https://repository.ucc.edu.co/bitstream/20.500.12494/6101/1/2018_Factores_Nutricionales_Termicos.pdf
- Tasaki, H., Munakata, Y., Arai, S., Murakami, S., Kuwayama, T., & Iwata, H. (2015). *The effect of high glucose concentration on the quality of oocytes derived from different growth stages of follicles*. 32(1), 41–48. <https://doi.org/10.1274/jmor.32.41>
- Umeki, A., Tanaka, T., & Kamomae, H. (2012). Effects of propylene glycol drenching before and after luteolysis on blood glucose, ovarian steroids and follicular dynamics in heifers. *Animal*, 6(2), 300–304. <https://doi.org/10.1017/S1751731111001558>
- Velasco, H. A. M. (2020). Efecto de flushing sobre las estructuras reproductivas en hembras post parto nelore mediante ecografía en la hacienda Santa Inés. In *Udla*. <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/12606>
- Wang, Y., Jin, C., Yi, Y., Hu, Y., Han, X., Tan, Z., Wang, Z., & Kang, J. (2023). Rumen - protected glucose stimulates the secretion of reproductive hormones and the mTOR / AKT signaling pathway in the ovaries of early postpartum. *Scientific Reports*, 0123456789, 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-30170-5>
- Wathes, D. C., Clempson, A. M., & Pollott, G. E. (2013). Associations between lipid metabolism and fertility in the dairy cow. *Reproduction, Fertility and Development*, 25(1), 48–61. <https://doi.org/10.1071/RD12272>

- Webb, R., Buratini, J., Gutierrez, C. G., & Campbell, B. K. (2016). *Follicle development and selection: past , present and future*. 234–249. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR883>
- Wiltbank, M. C., Garcia-Guerra, A., Carvalho, P. D., Hackbart, K. S., Bender, R. W., Souza, A. H., Toledo, M. Z., Baez, G. M., Surjus, R. S., & Sartori, R. (2014). Effects of energy and protein nutrition in the dam on embryonic development. *Animal Reproduction*, 11(3), 168–182. <https://www.animal-reproduction.org/article/5b5a603ef7783717068b4653>
- Zulia, U., Alonso, N., Mateo, J., & Científica, R. (2011). *Biochemical Indicators of Energy Balance Around Calving in Pasture-Based*. 10.18805/ag.R-2571

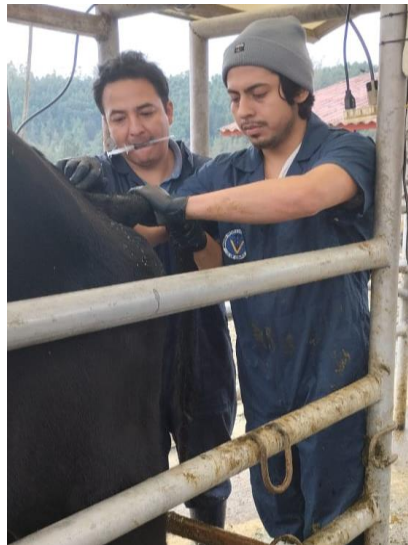
9. Anexos



Anexo A: Administración de agua y propilenglicol vía oral a las vaconas del grupo CON y PPG respectivamente



Anexo B: Extracción de sangre de la vena coccígea antes y después de la administración de agua y propilenglicol al grupo CON y PPG respectivamente



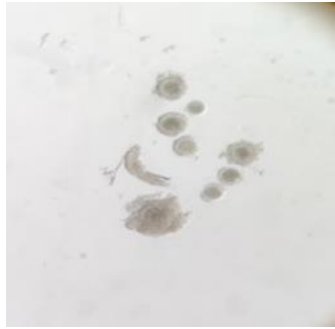
Anexo C: Bloqueo epidural (Roxicaina + Xilacina) antes de cada sesión de OPU a las vaconas de ambos grupos



Anexo D: Aspiración de los ovocitos después de realizar el conteo de folículos todas las vaconas



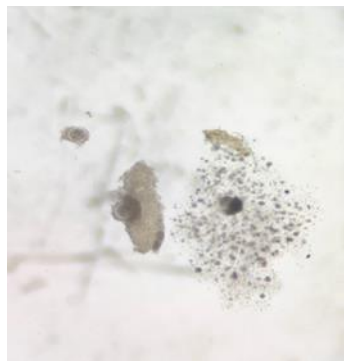
Anexo E: Valoración y clasificación de los COC's en el laboratorio de biotecnología



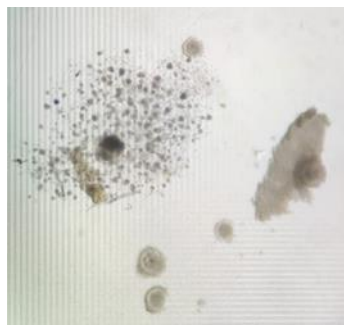
Anexo F: COC's de la vaquilla 562 del grupo PPG (primera fase)



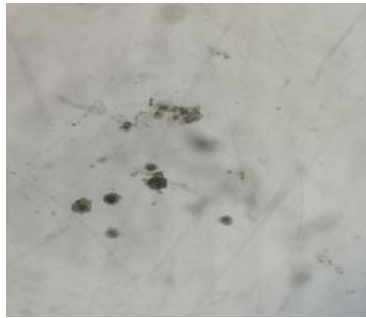
Anexo G: COC's de la vaquilla 575 del grupo PPG (primera fase)



Anexo H: COC's de la vaquilla 581 del grupo PPG (primera fase)



Anexo I: COC's de la vaquilla 590 del grupo PPG (primera fase)



Anexo J: COC's de la vacuilla 562 del grupo CON (segunda fase)



Anexo K: COC's de la vacuilla 575 del grupo CON (segunda fase)



Anexo L: COC's de la vacuilla 581 del grupo CON (segunda fase)



Anexo M: COC's de la vacuilla 590 del grupo CON (segunda fase)