

UCUENCA

Universidad de Cuenca

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**Protocolo de superovulación con Hormona Menopáusica Humana y
transferencia de embriones en cobayas**

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

Autor:

Katherine Estefanía Portilla Fajardo

Jocelyn María Rodríguez Gárate

Director:

Luis Eduardo Ayala Guanga

ORCID:  0000-0001-6543-7594

Cuenca, Ecuador

2024-10-29

Resumen

El presente estudio evaluó la eficacia de la hormona menopáusica humana (hMG) para inducir la superovulación en cobayas y exploró la técnica de transferencia de embriones *in vivo*. La investigación se llevó a cabo en una granja comercial ubicada en la parroquia Baños, cantón Cuenca, a una altura de 2.678 msnm y una temperatura promedio de 14°C. La colecta y transferencia de los embriones fue realizada en la Facultad de Ciencias Agropecuaria de la Universidad de Cuenca. Se trabajó con 10 cobayas donadoras (G1) y 5 receptoras (G2), el peso y condición corporal (CC) de las donadoras fueron acorde a una hembra con madurez sexual adecuada, principalmente por presentar un score alto de CC, lo que favoreció la respuesta a la superovulación SOV (70%), llegando a presentar un 72% de ovulaciones y una recuperación de estructuras del 36%. Del total de donadoras (n=10) 7 presentaron respuesta positiva al protocolo de SOV, de estas se recolectaron 11 embriones: 10 mórulas tempranas y 1 blastocisto, con un promedio de 1,5 embriones por lavado. La baja tasa de recuperación se atribuyó a imprecisiones en la determinación del día de monta, lo cual incidió en la determinación de la localización y desarrollo de los embriones. Aunque el monitoreo post operatorio de los parámetros fisiológicos fue estable, 2 receptoras fallecieron a causa de peritonitis. Las sobrevivientes mostraron una adecuada cicatrización; pero no se lograron gestaciones; sin embargo, una de las receptoras presentó signos de reabsorción embrionaria. Este innovador estudio resalta la importancia de perfeccionar los métodos de sincronización, así como de mejorar las distintas técnicas de transferencia de embriones, para aumentar la eficiencia reproductiva en investigaciones futuras en las cobayas.

Palabras clave del autor: embriones, hormona, lavado, protocolo, sincronización



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 present study evaluated the efficacy of human menopausal hormone (hMG) to induce superovulation in guinea pigs and explored the *in vivo* embryo transfer technique. The research was carried out in a commercial farm located in Baños, Cuenca canton, at an altitude of 2,678 meters above sea level and an average temperature of 14°C. The collection and transfer of embryos was carried out at the Faculty of Agricultural Sciences of the University of Cuenca. The work was done with 10 donor guinea pigs (G1) and 5 recipients (G2). The weight and body condition (BC) of the donors were in accordance with a female with adequate sexual maturity, mainly because they presented a high BC score, which favored the response to SOV superovulation (70%), reaching 72% ovulations and a recovery of 36% structures. Of the total number of donors (n=10), 7 showed a positive response to the SOV protocol, of which 11 embryos were collected: 10 early morulas and 1 blastocyst, with an average of 1.5 embryos per wash. The low recovery rate was attributed to inaccuracies in determining the day of mating, which affected the determination of the location and development of the embryos. Although the postoperative monitoring of the physiological parameters was stable, 2 recipients died due to peritonitis. The survivors showed adequate healing; but no pregnancies were achieved; however, one of the recipients showed signs of embryo resorption. This innovative study highlights the importance of perfecting synchronization methods, as well as improving the different embryo transfer techniques, to increase reproductive efficiency in future research in guinea pigs.

Author Keywords: embryos, hormone, wash, protocol, synchronization



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. Marco Teórico	15
3.1 Importancia del Cobayo	15
3.2 Ciclo Estral	15
3.2.1 Proestro	16
3.2.2 Estro.....	16
3.2.3 Metaestro	16
3.2.4 Diestro	17
3.3 Dinámica Folicular	17
3.4 Sincronización de celo	17
3.5 Superovulación	18
3.6 Hormonas específicas utilizadas en cobayas	18
3.6.1 FSH.....	19
3.6.2 hMG.....	19
3.6.3 Progesterona	19
3.7 Lavado de embriones	19
3.8 Colecta y valoración morfológica de embriones	20
3.9 Superovulación (SOV)	20
3.10 Transferencia de embriones (TE).....	21
3.10.1 Técnica Quirúrgica.....	21
4. Materiales y Métodos	24
4.1 Materiales	24
4.1.1 Materiales Biológicos	24
4.1.2 Materiales Químicos	24
4.1.3 Material de Laboratorio	24
4.1.4 Material de Cirugía.....	24
4.2 Ubicación del experimento	25
4.3 Unidad experimental	26
4.4 Diseño experimental	26

4.5 Metodología	27
4.5.1 Sincronización de las cobayas previo al SOV	27
4.5.2 Valoración del celo	27
4.5.3 Monta	28
4.5.4 Protocolo de superovulación	28
4.5.5 Lavado de embriones	29
4.5.6 Valoración morfológica de estructuras colectadas	31
4.5.7 Trasferencia quirúrgica de los embriones	32
4.5.8 Valoración de constantes fisiológicas	34
4.5.9 Valoración de la cicatrización de la herida	34
4.5.10 Determinación del número de cobayas gestantes a los 15 días post trasferencia	34
4.5.11 Análisis estadístico	34
5. Resultados	36
6. Conclusiones	46
7. Referencias	47
8. Anexos	53

Índice de figuras

Figura 1 Fase estral del cuy (Ríos, 2023)	16
Figura 2: Lavado de embriones, fuentes: Autor.	20
Figura 3: Lugar del proceso experimental	25
Figura 4: Lugar de colecta y transferencia de embriones	25
Figura 5: Protocolo de sincronización del celo en cobayas: día 0=inicio del protocolo, aplicación de progesterona oral (Altrenogest) hasta el día 15. Día 15 hasta día 17 = aplicación de dosis de hMG. MV=valoración diaria de la apertura de la membrana vaginal. 27	
Figura 6: Membrana vaginal con apertura de un 50%, fuentes: Autor.	28
Figura 7: Protocolo de superovulación con hormona menopáusica humana (hMG). AMV=revisión de apertura membrana vaginal. Lavado=colecta de los embriones.	28
Figura 8: Lavado de oviductos y cuernos uterinos, fuentes: Autor.	30
Figura 9: Cuerpo Lúteo (cortesía de Dr. José Luis Pesántez)	30
Figura 10: Folículos persistentes (cortesía de Dr. José Luis Pesántez)	31
Figura 11: Cargado de los embriones, fuentes: Autor.	31
Figura 12: Proceso Quirúrgico, fuentes: Autor.	32
Figura 13: Transferencia de embriones, fuentes: Autor.	33
Figura 14: Retorno del útero a su posición normal, fuentes: Autor.	34
Figura 15: Panel A, pesos medios de las cobayas donadoras (grupo 1) y de las receptoras (grupo 2). Panel B, media de la condición corporal de donadoras y receptoras. ns=no existe diferencia estadística. Prueba de T de Student al 5%.	36
Figura 16: Media y error estándar del día del celo determinado mediante la apertura del 50% de la membrana vaginal. ns=no hay diferencia estadística entre grupos. Prueba de T de Student al 5%.	37
Figura 17: Media y error estándar de la frecuencia cardiaca determinado post operatorio en nueve momentos diferentes (24, 48, 72, 96, 144, 192, 240, 288, 336 horas). abc=diferencia estadística entre momentos de valoración. Prueba de Tukey al 5%.	40
Figura 18: Media y error estándar de la frecuencia respiratoria determinado post operatorio en nueve momentos diferentes (24, 48, 72, 96, 144, 192, 240, 288, 336 horas). ABC=diferencia estadística entre momentos de valoración. Prueba de Tukey al 5%.	41
Figura 19: Media y error estándar de la temperatura valorada post operatorio en nueve momentos diferentes (24, 48, 72, 96, 144, 192, 240, 288, 336 horas). abc=diferencia estadística entre momentos de valoración. Prueba de Tukey al 5%.	41
Figura 20: Ecografía pre-sincronización.	53
Figura 21: Cobayas donadoras y receptoras.	53
Figura 22: Preparación de materiales para TE.	53

Figura 23: Determinación de embriones viables para transferencia.	53
Figura 24: Transferencia de Embriones.	53
Figura 25: Cobayas en recuperación postcirugía.	53
Figura 26: Toma de constantes fisiológicas post TE.	54
Figura 27: Necropsia postmortem cobaya receptora.	54
Figura 28: Hallazgo durante la necropsia: hongos en el estómago.	54
Figura 29: Ecografía destinada a confirmar una posible preñez.	54

Índice de tablas

Tabla 1: Resultados del número de estructuras, embriones, ovocitos no fecundados (UFO's), colectados en el día del lavado de embriones. Número de folículos no ovulados (FNO) y cuerpos lúteos (CL) observados en los ovarios de las donadoras.	38
Tabla 2: Media y desviación estándar de las estructuras, embriones, mórulas, blastocistos, folículos que no ovularon (FNOv) y cuerpos lúteos (CLs) colectados a los 4 días post-monta.	39
Tabla 3: Secuencia fotográfica de la valoración de la cicatrización de las receptoras (números: 7, 8, 2, 4 y 13) realizado a las 24, 71 y 336 horas post cirugía.	43
Tabla 4: Resultado del diagnóstico de gestación realizado al día 15 post transferencia de los embriones (TE) a las cobayas mediante ecografía abdominal.	44

Agradecimientos

En primer lugar, quiero expresar mi más sincero agradecimiento a Dios. Su guía y apoyo han sido la fuerza que me ha llevado a lo largo de este viaje. En los momentos de duda y desafío, Su presencia me ha brindado paz y claridad. Estoy profundamente agradecida por cada oportunidad y cada experiencia que me ha permitido crecer y aprender.

A mis padres César Portilla y Julia Fajardo, un agradecimiento especial por ser mis pilares. Su amor y sacrificio incondicionales han sido la base sobre la cual he construido mis sueños. Desde pequeña, me han enseñado la importancia de la perseverancia y la dedicación, valores que me han guiado en este proceso. Gracias por creer en mí y por estar siempre ahí para ofrecerme su apoyo y motivación.

A mis hermanas, Camila y Jessica, por ser mis mejores amigas y aliadas. Su constante aliento y apoyo me han inspirado a seguir adelante, incluso en los momentos más difíciles. Ustedes han compartido mis alegrías y mis luchas, y su compañía ha hecho que esta travesía sea aún más especial. Gracias por ser una fuente de fortaleza y amor. A mi hermano, Bryam, le agradezco de corazón por sus buenos consejos y por el tiempo que ha compartido conmigo.

A mi enamorado, por su amor incondicional y su paciencia. Gracias por estar a mi lado, por creer en mí y por celebrar cada pequeño logro. Tu aliento incondicional y tu confianza en mis capacidades han sido un faro que me guio en los momentos de duda. No podría haber alcanzado esta meta sin tu amor y apoyo. Este trabajo es tanto mío como tuyo, y espero que lo compartamos con orgullo. ¡Gracias por ser mi compañero de vida!

Su amor, paciencia y comprensión me han proporcionado un espacio seguro para crecer y perseguir mis metas. Ustedes son mi motivación constante, y cada uno de ustedes ha dejado una huella indeleble en mi corazón.

A mis profesores, por compartir su conocimiento y brindarme herramientas valiosas durante mi formación. Especialmente, a mi tutor de tesis Dr. Luis Ayala, por su orientación y paciencia en cada etapa de este proyecto. Su experiencia y sabiduría han sido fundamentales para alcanzar este objetivo. A mis tutores de tesis: Dr. José Luis Pesantez, Dra. Gabriela Garay y Dr. Jorge Dután por haber formado parte de este proyecto, por sus valiosas sugerencias y observaciones. Su tiempo y dedicación han sido esenciales para mejorar este trabajo.

Y, por último, pero no menos importante, a todos aquellos que, de alguna manera, han contribuido a mi desarrollo personal y académico, les agradezco sinceramente. Este logro no es solo mío, sino también de todos ustedes, quienes han estado a mi lado en este recorrido.

Katherine Portilla

Dedicatoria

Este trabajo va dedicado a las personas más significativas en mi vida, quienes han sido mi apoyo incondicional y mi fuente de inspiración.

Principalmente, a Dios, por ser la luz en mis momentos de oscuridad y por darme la fuerza y la sabiduría necesaria para seguir adelante. Este logro es un testimonio de su infinita gracia y amor en mi vida.

A mis padres, cuya dedicación, sacrificio y amor incondicional han sido el cimiento de mis sueños. Gracias por enseñarme el valor del esfuerzo y por apoyarme en cada paso de este camino. Su confianza en mí ha sido un impulso constante

A mis queridas hermanas, quienes siempre han estado a mi lado, compartiendo risas, lágrimas y momentos inolvidables. Su apoyo y aliento han sido cruciales en esta travesía.

Finalmente, a mis amigos cercanos, por su compañía, por ser mis confidentes y por recordarme la importancia de disfrutar cada momento. Su amistad ha sido un regalo invaluable en esta etapa de mi vida.

Todos ustedes han sido parte fundamental de este logro.

Katherine Portilla

Agradecimientos y Dedicatoria

En primer lugar, quiero agradecer a Dios, por darme la fortaleza, la guía y las oportunidades para llegar hasta este momento.

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mi familia, Ximena Rodríguez, Carlos Rodríguez, Anita Gárate, Karla Rodríguez y Andrés Pesantez, quienes me enseñaron desde pequeña la importancia del esfuerzo y el valor de la educación. Gracias por creer en mí, por apoyarme incondicionalmente y por ser el pilar fundamental en cada paso de este recorrido, por su amor incondicional, por ser mi pilar en los momentos difíciles y por siempre creer en mí.

Agradezco a mi esposo, por su paciencia infinita, por entenderme en los momentos de cansancio y por estar a mi lado en cada desafío. Eres mi compañero de vida y esta meta es también fruto de tu amor y apoyo constante.

A nuestro tutor de tesis Dr. Luis Ayala, por su guía, paciencia y dedicación a lo largo de este proceso. Sus consejos y su apoyo constante fueron esenciales para la realización de esta tesis.

Agradezco también a todos los profesores de cada cátedra en esta hermosa carrera, quienes me brindaron sus conocimientos y compartieron su experiencia, aportando valiosas ideas que enriquecieron este trabajo.

Finalmente, quiero dedicar este logro a todos aquellos que me inspiraron a seguir adelante, superando cada desafío con esfuerzo y determinación. Sin cada uno de ustedes, esta tesis no habría sido posible.

Jocelyn Rodríguez

1. Introducción

En Latinoamérica, la crianza de cobayos se realiza especialmente en zonas interandinas de Ecuador, Perú y Bolivia (Vivas, 2013), esto se debe a su precocidad y alta tasa de reproducción, siendo una fuente valiosa de alimento para la población rural (Reyes et al., 2021). Debido a sus similitudes fisiológicas con la especie humana, su uso es crucial para la comprensión y tratamiento de diversas patologías médicas (Verduzco & Hernández, 2005). Por otro lado, su camada relativamente pequeña, limita su disponibilidad y hace que su cría sea menos rentable para propósitos de investigación a gran escala (Dorsch et al., 2008).

Una alternativa para mejorar la disponibilidad crías de cobayas es utilizar biotécnicas reproductivas como la sincronización del celo, la superovulación y la transferencia embriones producidos *in vivo* en esta especie. En este contexto se ha descrito la utilización de la progesterona oral durante 15 días consecutivos en dosis de 0,22 mg/kg de peso obteniendo la aparición del celo (95%) tres días en promedio posterior a la finalización del protocolo (Grégoire et al., 2012).

Además, se lograron avances en el establecimiento de protocolo de superovulación como el descrito por Luna et al. (2003), quienes describieron que las gonadotropinas más utilizadas son: la hormona folículo-estimulante (FSH), la hormona luteinizante (LH), gonadotropina menopáusica humana (hMG); sin embargo, estas hormonas se deben administran en dosis específicas y en momentos precisos del ciclo estral para así llegar a estimular el desarrollo de múltiples folículos ováricos lo cual generó que los resultados sean contradictorios (Armstrong & Opavsky, 1988).

La hormona menopáusica humana (hMG), al igual que la FSH y la LH, demostró ser efectiva en estimular el crecimiento y la maduración folicular, como señalan Daya et al. (1995). Investigaciones previas como las de McNatty et al. (1979), evidenció que el líquido folicular de los folículos preovulatorios tratados con esta hormona contiene una cantidad considerable de esteroides no conjugados, como progesterona, androstenediona y estradiol. Además, Shoham et al., (1991) señalaron que esta hormona contiene una proporción equilibrada de FSH y LH, así como también una forma purificada de FSH lo cual le permite ser más eficiente. Por lo que es interesante probar esta hormona en los protocolos de sincronización (SOV).

La transferencia transcervical de embriones ha sido un método utilizado en roedores por su simplicidad, rapidez y seguridad, evitando el trauma quirúrgico en los ratones receptores (Cui et al., 2014). Para cobayas, el primer éxito en transferencia de embriones fue demostrado por Grégoire et al. (2012) quienes describieron la viabilidad del método quirúrgico clásico en condiciones de campo para obtener preñeces en esta especie. De todas maneras Grégoire

et al. (2012) sugirieron investigar el uso de pipetas de vidrio para una colocación más precisa del embrión y explorar la transferencia de embriones congelados-descongelados a gran escala.

En esta tesis planteamos que la combinación de sincronización de celo con Altrenogest en cobayas durante 15 días seguida de la administración de 10 UI de hMG durante tres días indujo una superovulación y mediante la técnica de transferencia quirúrgica se pudo obtener gestaciones de cobayas en vientres de receptoras.

2. Objetivos

2.1 Objetivo General

Evaluar la eficacia de la administración de hormona menopáusica humana (hMG) para inducir la superovulación en cobayas, así como explorar la técnica de transferencia de embriones in vivo, con el propósito de mejorar la eficiencia reproductiva en esta especie.

2.2 Objetivos Específicos

- Analizar la eficacia de la administración de 10 UI de hormona menopáusica humana (hMG) en cobayas previamente sincronizadas.
- Validar la eficiencia y viabilidad de la transferencia de embriones in vivo en cobayas, utilizando un método quirúrgico clásico.

3. Marco Teórico

3.1 Importancia del Cobayo

El cobayo, “*Cavia porcellus*” también conocido como conejillo de Indias, es un animal de gran importancia en diversas culturas, especialmente en América del Sur (Calvopiña, 2018). Tradicionalmente, el cobayo ha sido una fuente vital de proteína animal en países como Perú, Bolivia y Ecuador, donde se cría y consume de manera sostenible, por ende, la importancia de su reproducción (Chauca, 1997).

El cuy es un animal social que muestra comportamientos de jerarquía y cooperación (Dávila et al., 2018). Su dieta es estrictamente herbívora, basada en heno, verduras frescas, frutas y pellets específicos para cobayas, lo que garantiza un adecuado aporte de fibra y vitamina C, esencial para su salud (Humberto & Ruiz, 2024). Los cuyes requieren un ambiente limpio y seguro, con suficiente espacio para moverse y esconderse, además de una alimentación constante para evitar problemas digestivos (Guzmán, 2022). Con una temperatura corporal que oscila entre 38°C y 39,5°C, una frecuencia cardíaca de 230 a 280 latidos por minuto, frecuencia respiratoria de 80 a 92 respiraciones por minuto, y una esperanza de vida de 4 a 6 años, máximo 8, los cuyes son animales robustos y relativamente longevos (Barahona & Pauta, 2012).

3.2 Ciclo Estral

El ciclo estral es un conjunto de eventos fisiológicos regulados por GnRH, FSH, LH, progesterona, estradiol y prostaglandina, que interactúan a través de mecanismos de retroalimentación positiva y negativa (Garverick & Smith, 1993). Este ciclo se divide en cuatro fases: proestro, estro, metaestro y diestro (Byers et al., 2012). Durante estas fases, se producen cambios en las estructuras ováricas y en los niveles hormonales, que facilitan la receptividad hacia el macho, la ovulación y la preparación del tracto genital para la copulación (Fatet et al., 2011).

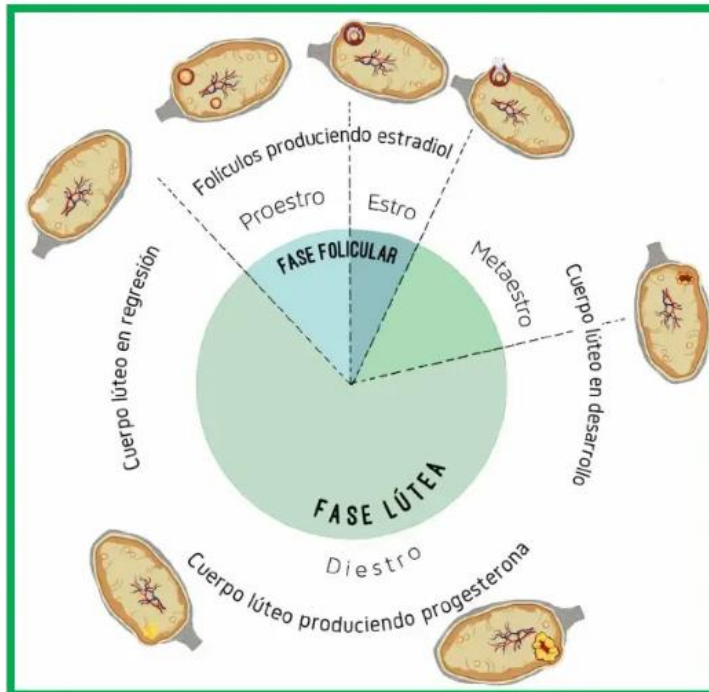


Figura 1 Fase estral del cuy (Ríos, 2023)

3.2.1 Proestro

En esta fase se produce la regresión del cuerpo lúteo del ciclo anterior, un proceso conocido como luteólisis, y se inicia el crecimiento folicular (Guáqueta, 2009). La luteólisis conlleva una disminución en los niveles de progesterona, lo que reduce la retroalimentación negativa sobre la secreción de GnRH. Como resultado, se incrementan las frecuencias de los pulsos de LH y FSH, lo que a su vez estimula la secreción de estradiol debido al desarrollo de los folículos (Pohler et al., 2019).

3.2.2 Estro

Durante esta etapa los niveles elevados de estrógenos continúan, lo que desencadena el comportamiento de celo y la receptividad sexual. Estos altos niveles de estrógenos ejercen una retroalimentación positiva sobre la LH, provocando un pico preovulatorio que inicia la cascada de eventos intrafolículos y resulta en la ovulación, con la ruptura de los folículos ováricos y la liberación del ovocito (Garverick & Smith, 1993; Guáqueta, 2009).

3.2.3 Metaestro

Da lugar a la formación del cuerpo lúteo a partir del folículo colapsado, también conocido como cuerpo hemorrágico. Se produce un aumento en los niveles de progesterona debido a la luteinización de las células de la granulosa y de la teca (Forde et al., 2011).

3.2.4 Diestro

Aquí el cuerpo lúteo alcanza su desarrollo completo y su diámetro máximo (Guáqueta, 2009), mientras que la concentración de progesterona en sangre se mantiene alta para preparar y mantener la preñez (Niswender et al., 2000). Si no se detecta un embrión, el útero secreta prostaglandina, lo que provoca la lisis del cuerpo lúteo (Ginther, 1974), dando lugar al proestro y al inicio de un nuevo ciclo.

3.3 Dinámica Folicular

La dinámica folicular es un proceso regulado por señales endocrinas como gonadotropinas y esteroides, además de hormonas peptídicas locales conjuntamente con factores de crecimiento, que abarca el crecimiento, la regresión de los folículos antrales y el desarrollo del folículo preovulatorio (Espinoza et al., 2007). En las cobayas, este proceso se manifiesta en dos ondas foliculares: la primera, que finaliza alrededor del día 10 a 11, y la segunda, que culmina en la ovulación (Bland & Donovan, 1964). Durante estas ondas, se produce un desarrollo coordinado de folículos antrales en diferentes estadios de reclutamiento y dominancia. Los folículos pequeños y medianos alcanzan su tamaño máximo entre el día 6 y 7, generando entre 2 y 6 folículos preovulatorios, mientras que los folículos grandes sufren atresia y apoptosis en las células de la granulosa (Logothetopoulos et al., 1995).

El crecimiento folicular implica la proliferación y diferenciación de células de la teca y la granulosa, lo que incrementa la capacidad de los folículos para producir estradiol y responder a las gonadotropinas; cada onda folicular inicia con el reclutamiento de folículos primordiales, con la selección del folículo dominante al final de la fase común de crecimiento, mientras que los folículos restantes sufren atresia (Grégoire et al., 2012). Tras la pubertad, las cobayas comienzan su vida reproductiva bajo condiciones de tamaño y peso adecuadas, con la adenohipófisis liberando gonadotropinas que estimulan la producción de esteroides gonadales y regulan el ciclo (Pignon & Mayer, 2020). El ciclo folicular se divide en dos fases: la fase lútea, marcada por la presencia del cuerpo lúteo y altos niveles de progesterona sin manifestaciones del comportamiento estral, y la fase folicular, que inicia con el proestro y lleva a un aumento en los niveles de estrógeno, inducido por el desarrollo del folículo preovulatorio, y la subsecuente ovulación (Oñate, 2008).

3.4 Sincronización de celo

La sincronización del estro implica manipular el ciclo estral para que las hembras entren en celo de manera simultánea, siendo una técnica comúnmente utilizada en programas de inseminación artificial y trasplante de embriones; el éxito de esta técnica depende de la selección del método apropiado para cada animal (Oñate, 2008). El uso de productos

hormonales, aunque efectivo, no permite predecir con exactitud el momento del estro debido a variaciones individuales y la detección puede ser laboriosa y propensa a errores (Luna et al., 2003). Sincronizar el estro y la ovulación permite prever con mayor precisión el momento del celo, facilitando la inseminación artificial y reduciendo el tiempo necesario para su detección; en la crianza de cuyes, donde las fechas de celo y parto varían, esta sincronización podría uniformar la comercialización de lotes (Grégoire et al., 2012).

3.5 Superovulación

La superovulación se refiere a la inducción de una ovulación múltiple mediante la administración de hormonas, como la hormona gonadotropina humana (hMG), que estimulan el desarrollo de varios ovocitos en el ovario al mismo tiempo; en el caso específico de las cobayas, este proceso resulta en la obtención de un número significativamente mayor de ovocitos maduros en comparación con la ovulación natural, el objetivo de esta es maximizar la cantidad de ovocitos disponibles para procedimientos reproductivos, como la fertilización in vitro y el trasplante de embriones, lo que mejora la eficiencia de estas técnicas al incrementar la cantidad de ovocitos recuperables para su uso (Suzuki et al., 2003).

La respuesta superovulatoria puede verse afectada por factores externos como el clima, la dieta, el manejo y la calidad del semen, aunque un estudio de seis años realizado por Hasler et al. (1983) no encontró diferencias significativas en el número de estructuras recuperadas en función del año, estación o mes, pero sí en la tasa de fertilización. La calidad del semen es esencial para obtener una cantidad adecuada de embriones, ya que influye en la calidad de los ovocitos y embriones recuperados, además, aspectos fisiológicos como el estado ovárico, la especie, raza, edad, número de partos, son determinantes importantes en la respuesta superovulatoria y deben ser considerados al desarrollar programas de transferencia de embriones (Jiménez, 2009).

3.6 Hormonas específicas utilizadas en cobayas

La aplicación de hormonas en cobayas es fundamental para inducir la ovulación, las hembras pueden ser tratadas con **FSH** para estimular el desarrollo folicular, y posteriormente con LH o HCG (gonadotropina coriónica humana, que tiene una función similar a la LH) para provocar la ovulación, además, para la recolección de óvulos en programas de reproducción asistida, las cobayas pueden ser sometidas a tratamientos con hMG para inducir la superovulación (Terranova & Greenwald, 1981).

Las hormonas FSH, LH y hMG juegan roles cruciales en la reproducción de las cobayas y otros mamíferos (Terranova & Greenwald, 1981).

3.6.1 FSH

Estimula el desarrollo es decir en el crecimiento de los folículos y maduración de ovocitos en las hembras (Daya et al., 1995). En los machos, promueve la producción de espermatozoides al actuar sobre las células de Sertoli en los testículos, mejorando la fertilidad (Bustos, 2012), la administración de LH o análogos puede inducir la ovulación en protocolos de sincronización (Daya et al., 1995). En los machos, la LH estimula la producción de testosterona por las células de Leydig en los testículos, por lo que aumenta la producción de testosterona, afectando la libido y la calidad del espermatozoides (Bustos, 2012).

3.6.2 hMG

Contiene tanto FSH como LH, y se utiliza para estimular el desarrollo folicular en tratamientos de fertilidad, puede ser utilizada para inducir la superovulación en hembras, estimulando el desarrollo de múltiples folículos. Esto es útil en programas de reproducción asistida, como la transferencia de embriones (Daya et al., 1995).

3.6.3 Progesterona

La administración oral de progesterona es una técnica utilizada para la sincronización del celo en cobayas, facilitando el control del ciclo estral en hembras reproductivas, este método implica la administración de progesterona durante un periodo de 7 a 14 días, induciendo un estado de anestro, al finalizar el tratamiento y retirar la progesterona, las hembras regresan al ciclo estral de manera sincronizada, este control preciso del ciclo reproductivo permite programar de manera efectiva la inseminación artificial o la transferencia de embriones, la supervisión veterinaria es crucial para asegurar la dosificación correcta y el bienestar de los animales; además, se puede complementar con la administración de gonadotropinas para estimular la ovulación después de retirar la progesterona, optimizando así la eficiencia reproductiva (Ferrin, 2022).

En un ciclo normal, la fase lútea corresponde a la presencia de un cuerpo lúteo activo en el ovario, el cual secreta progesterona y bloquea una nueva ovulación. Los niveles de progesterona caen, debido a la regresión del cuerpo lúteo, desapareciendo así la retroalimentación negativa que ejerce sobre el hipotálamo, estimulando así la secreción de FSH y LH por la hipófisis, lo que provoca el desarrollo de una nueva onda folicular y la ovulación (Ferrin, 2022).

3.7 Lavado de embriones

El lavado de embriones en cobayas es una técnica de reproducción asistida que consiste en recolectar embriones desde el tracto reproductivo de una hembra fertilizada, para el lavado de los oviductos y útero se utilizará la misma de solución salina buferada de fosfato

suplementado con suero fetal bovino, las estructuras recolectadas mediante un flushing de los oviductos y las partes consecutivas del útero que brevemente consiste en localizar la zona del infundíbulo abrirlo y con un catéter de 33 G introducirlo y fijarlo para el lavado, el lavado se lo realizará por tres ocasiones con medio PBS, asimismo, en los ovarios se evaluará el número de cuerpos lúteos y de folículos para saber la tasa de recolección de estructuras (Shi et al., 2000).



Figura 2: Lavado de embriones, **fuentes:** Autor.

3.8 Colecta y valoración morfológica de embriones

La valoración y clasificación morfológica de las estructuras se realizó siguiendo la metodología descrita por Shi et al. (2000). La evaluación de las estructuras se ejecutó bajo la luz de un estereomicroscopio con un lente de aumento de 50 a 100x. Primero se clasificaron las estructuras en ovocitos sin fecundar y embriones. La viabilidad del embrión a través de su etapa de desarrollo en relación a la ovulación, la calidad se determinó siguiendo las recomendaciones de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones (IETS, por sus siglas en inglés), adaptando a nuestro estudio según las indicaciones de Suzuki et al. (2003).

3.9 Superovulación (SOV)

Los cobayas producen camadas de tamaño pequeño a mediano, y es posible obtener solo unos pocos embriones preimplantacionales de una hembra. Métodos como la inducción de la superovulación mediante la vacuna de inhibina, como lo describen Shi et al. (2000), o las inyecciones de gonadotropina sérica de yegua preñada tras la implantación prolongada de tubos de progesterona (Kosaka & Takahashi, 1989) no son adecuados para el uso rutinario en el laboratorio debido a su alta complejidad y costo. Para establecer un banco de embriones

congelados, parece ser más efectivo un protocolo alternativo que utiliza gonadotropina menopáusica humana (hMG) administrada subcutáneamente durante tres días consecutivos del ciclo estral (Suzuki et al., 2003). No obstante, este método requiere optimización para su aplicación rutinaria, ya que las variaciones significativas en la duración del ciclo estral de 15 a 19 días complican aún más el proceso (Rizzi et al., 2007).

3.10 Transferencia de embriones (TE)

En 1951 se realizó por primera vez la transferencia transcervical de embriones en ratones, pero las bajas tasas de implantación y gestación llevaron a preferir la TE quirúrgica. Los primeros intentos con un sistema rígido tuvieron malos resultados debido a daños en el endometrio y el cuerno uterino; para mejorar Cui et al. (2014) desarrollaron un dispositivo con un tubo arqueado y un proceso simulado previo a la transferencia real, reduciendo la expulsión de embriones y aumentando las tasas de implantación. Además, recomendaron anestesiarse a los ratones y limitar el volumen de medio transferido, estas mejoras elevaron las tasas de éxito de 66,7% a 73,5%, significativamente más altas que métodos anteriores (Dorsch et al., 2008).

La TE es clave para la investigación genética y se ha perfeccionado con un método transcervical más sencillo y menos invasivo que las técnicas quirúrgicas. Este procedimiento, que transfiere de 6 a 8 blastocistos a ratonas pseudopreñadas anestesiadas, es tan eficaz como los métodos quirúrgicos, con tasas de éxito del 66,7% al 73,5% en el desarrollo de fetos vivos. Además de ser higiénico y económico, este método respeta los principios de las 3R (reemplazo, reducción, refinamiento), mejorando el trato a los animales y representando un avance significativo en la investigación biomédica aplicable a otros animales y potencialmente a humanos (Cui et al., 2014).

3.10.1 Técnica Quirúrgica

La técnica quirúrgica de lavado de embriones en cobayas es un procedimiento minucioso que demanda gran precisión. Es esencial una preparación exhaustiva que abarca desde la selección de las cobayas hasta su recuperación postquirúrgica.

3.10.1.1 Laparotomía

Es un método utilizado para acceder al útero en cobayas, es un procedimiento quirúrgico especializado que permite examinar de manera detallada, antes de la cirugía, es esencial realizar un examen físico completo y, en algunos casos, pruebas de laboratorio para asegurar que el animal esté en óptimas condiciones para la anestesia y la cirugía, la cobaya debe ser anestesiada adecuadamente para reducir el dolor y el estrés durante el procedimiento. Se

realiza una incisión en la línea media ventral del abdomen, que se ha rasurado y desinfectado previamente para mantener la esterilidad. Una vez abierta la cavidad abdominal, el útero y los ovarios se examinan cuidadosamente. Se pueden realizar procedimientos como la ovariectomía para esterilización o la eliminación de masas uterinas, y transferencia de embriones directo al útero, tras la intervención, la incisión abdominal se cierra en capas, utilizando suturas absorbibles para el peritoneo y los músculos, y suturas no absorbibles para la piel, el cuidado postoperatorio incluye la administración de analgésicos y antibióticos, así como el monitoreo continuo del cobayo para detectar cualquier signo de complicación, este procedimiento requiere una gran precisión y experiencia para garantizar una recuperación segura y efectiva del animal (Montenegro et al., 2023).

3.10.1.2 Laparoscopia

Este método para acceder al útero en cobayos es una técnica quirúrgica mínimamente invasiva que permite examinar y tratar afecciones uterinas con menor trauma y recuperación más rápida en comparación con la laparotomía tradicional, este procedimiento implica el uso de un laparoscopio, un instrumento delgado y tubular equipado con una cámara, que se introduce en la cavidad abdominal a través de pequeñas incisiones, antes de la cirugía, durante la laparoscopia, el cobayo se anestesia y se coloca en posición dorsal, se realizan pequeñas incisiones en el abdomen, que se han rasurado y desinfectado previamente, el laparoscopio y otros instrumentos quirúrgicos se insertan a través de estas incisiones para visualizar y tratar el útero y los ovarios. Este procedimiento permite realizar de igual manera intervenciones como la ovariectomía, la extracción de masas y transferencia de embriones con mínima invasión, tras la intervención, las pequeñas incisiones se cierran con suturas absorbibles, la recuperación postoperatoria suele ser más rápida y menos dolorosa que con la cirugía abierta, y la cobaya requiere menos tiempo de monitoreo y menos analgésicos, la laparoscopia, al ser menos invasiva, reduce significativamente el riesgo de complicaciones y acelera la recuperación del animal (McCready et al., 2022).

3.10.1.3 Método Quirúrgico con incisión Medial

El método quirúrgico con incisión medial para visualizar el útero en cobayas es una técnica detallada y precisa que permite la evaluación directa de la cavidad uterina, primero, el animal es anestesiado y se le coloca en posición dorsal sobre la mesa de operaciones, se realiza una limpieza y desinfección exhaustiva de la zona abdominal para minimizar el riesgo de infecciones (Colman, 2023).

A continuación, se realiza una incisión longitudinal en la línea media del abdomen, en el área comprendida entre el apéndice xifoides hasta la región púbica, la capa de piel y el tejido

subcutáneo se separan con cuidado utilizando pinzas y bisturí. Una vez expuesta la pared abdominal, se realiza una incisión en la capa de músculo abdominal para acceder a la cavidad peritoneal; Los órganos internos, incluyendo el útero, se identifican y se desplazan con delicadeza para evitar daño, la visualización del útero se facilita mediante el retractor de tejidos y la correcta iluminación del área quirúrgica, este enfoque permite una inspección detallada del útero para diagnósticos o procedimientos específicos, finalmente, se procede a la sutura cuidadosa de las capas musculares y la piel, asegurando una cicatrización óptima. La recuperación del animal se monitorea de cerca, proporcionando cuidados postoperatorios adecuados para garantizar una recuperación exitosa (Perret-Gentil, 2022).

3.10.1.4 Método Quirúrgico con Incisión Lateral

El método quirúrgico con incisión lateral para visualizar el útero en cobayas es una técnica efectiva que permite una evaluación detallada del tracto reproductivo. Inicialmente, se anestesia al animal y se coloca en posición lateral sobre la mesa quirúrgica, la zona abdominal se limpia y desinfecta minuciosamente para prevenir infecciones, se realiza una incisión transversal en el flanco del abdomen, entre las costillas y la región pélvica, esta incisión se extiende con cuidado a través de la piel y el tejido subcutáneo, utilizando un bisturí o tijeras quirúrgicas, tras llegar a la capa muscular abdominal, se realiza una apertura controlada para exponer la cavidad peritoneal, los órganos abdominales, incluidos los cuernos uterinos, se identifican y se manipulan con precisión utilizando pinzas y retractores, permitiendo una visualización clara, este enfoque lateral proporciona un acceso más focalizado al útero sin tener que exponer toda la cavidad abdominal, de igual manera, se realiza una sutura cuidadosa de los músculos abdominales y la piel, y se proporciona un cuidado postoperatorio adecuado para asegurar una recuperación óptima del animal, este método es valorado por su menor impacto en la estructura corporal y su eficacia en la evaluación del útero (Centeno, 2014).

4. Materiales y Métodos

4.1 Materiales

4.1.1 Materiales Biológicos

- Cobayas
- Cobayos
- Embriones
-

4.1.2 Materiales Químicos

- Medio de lavado de embriones (ViGRO™ complete flush)
- Solución fisiológica, suplementada con polivinilalcohol.
- Alcohol 70%
- Meloxicam
- Dexmetomidina
- Ketamina
- Enrofloxacin
- Trimetoprim-sulfa

4.1.3 Material de Laboratorio

- Pipetas automáticas
- Placas Petri cuadradas
- Filtros de 0,22 micras
- Baño María
- Platina térmica
- Tubos Falcon de 15 ml
- Tubos Eppendorf de 1,5 ml
- Estéreo microscopio (Nikon, instruments Inc., Japón)

4.1.4 Material de Cirugía

- Máquina depiladora
- Cuchilla N° 30
- Bolsas térmicas
- Equipo de cirugía para ovario histerectomía
- Anestésicos para TIVA
- Estetoscopio
- Termómetro

- Gancho para OVH
- Hilo 3-0 de ácido poliglicólico

4.2 Ubicación del experimento

Los cobayos fueron mantenidos en una granja comercial ubicada en la parroquia Baños, cantón Cuenca, a una altura de 2.678 msnm. Temperatura promedio de 14°C. La colecta y la transferencia de los embriones fue realizada en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca.

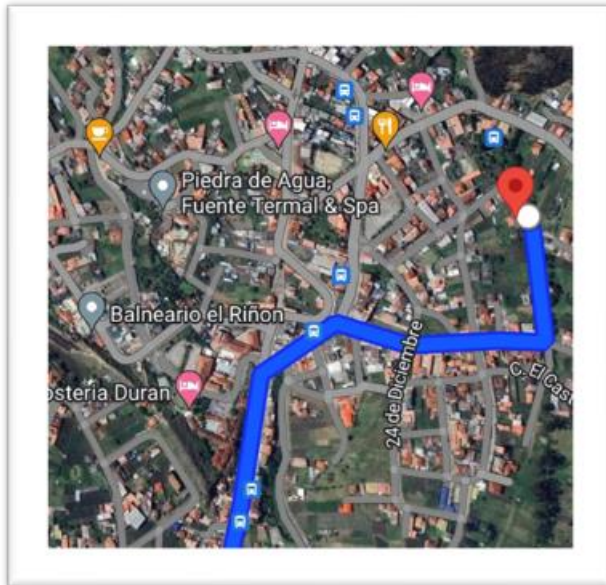


Figura 3: Lugar del proceso experimental, **fuentes:** Google Maps (2022).

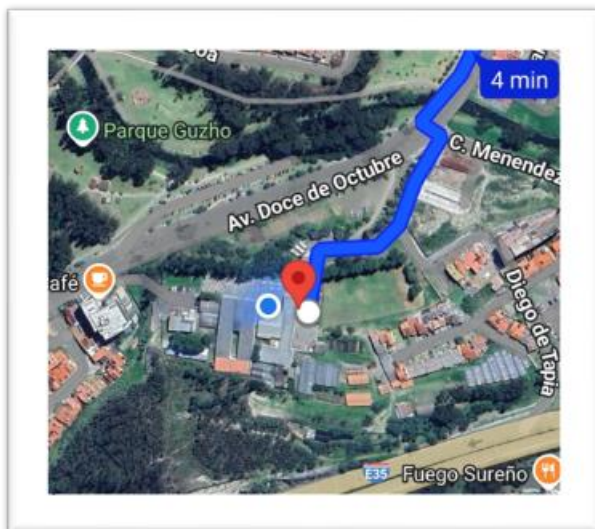


Figura 4: Lugar de colecta y transferencia de embriones, **fuentes:** Google Maps (2022).

4.3 Unidad experimental

Se utilizaron 15 cobayas mestizas primíparas con peso medio de $970,3 \pm 40,54$ g, condición corporal (CC) de $2,6 \pm 0,11$. De estas 15 hembras 10 fueron utilizadas como donadoras y 5 como receptoras. El empadre se realizó con 5 machos, peso promedio de $1180,3 \pm 84,50$ g, edad entre 8-10 meses, de fertilidad comprobada en base a los registros de la granja. Las cobayas fueron mantenidas en jaulas de 0,5 metros (m) de largo por 0,5 m de ancho y 0,5 m de alto, según recomendaciones emitidas por Vivas (2013). Los animales fueron alimentados con una mezcla forrajera compuesta de Ray grass (*Lolium multiflorum*) y Alfalfa (*Medicago sativa*), más balanceado comercial que contenía proteína cruda al 18% y agua *ad libitum*.

4.4 Diseño experimental

La investigación fue descriptiva en esta se probó un protocolo de superovulación y transferencia quirúrgica de embriones (MOET) en cobayas. Se analizó las siguientes variables:

Objetivo 1:

Independiente:

- Protocolo de SOV

Dependiente:

- Respuesta al protocolo de SOV mediante la valoración del número de cuerpos lúteos el día del lavado
- Número de embriones colectados
- Estadío y calidad de embriones colectados

Objetivo 2:

Independiente:

- Técnica de transferencias

Dependiente:

- Constantes fisiológicas valoradas post-trasferencia
- Valoración de la cicatrización
- Cobayas gestantes 15 días post transferencia de los embriones

4.5 Metodología

4.5.1 Sincronización de las cobayas previo al SOV

El protocolo de sincronización de celo en cobayas se realizó mediante la aplicación de un progestágeno sintético, cuyo principio activo fue Altrenogest (Regumate®, MSD Animal Health, Francia). La dosis empleada fue de 0,22 mg/Kg de peso vivo durante 15 días por vía oral, según la metodología aplicada por (Grégoire et al., 2012). El día del inicio del protocolo (día 0) a las 09:00 se administró el progestágeno, mediante una pipeta automática regulable, este procedimiento se repitió hasta el día 15 (**Figura 6**).

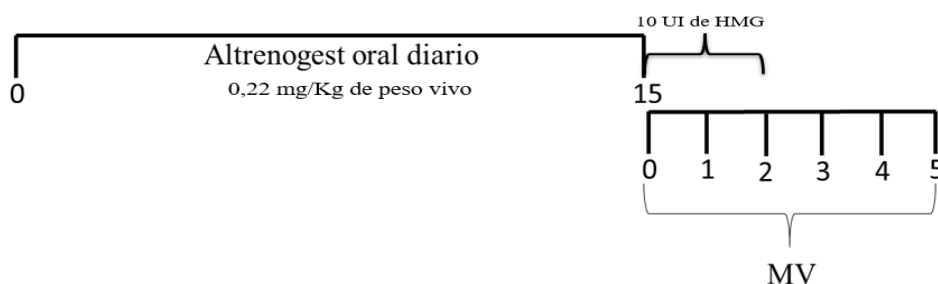


Figura 5: Protocolo de sincronización del celo en cobayas: día 0=inicio del protocolo, aplicación de progesterona oral (Altrenogest) hasta el día 15. Día 15 hasta día 17 = aplicación de dosis de hMG. MV=valoración diaria de la apertura de la membrana vaginal.

4.5.2 Valoración del celo

A partir del último día del protocolo de sincronización (día 15) cada 24 horas se observó la membrana vaginal, cuando esta mostró un 50% de apertura (**Figuras: 6 y 7**) se consideró a la cobaya en celo (Garay et al., 2023).

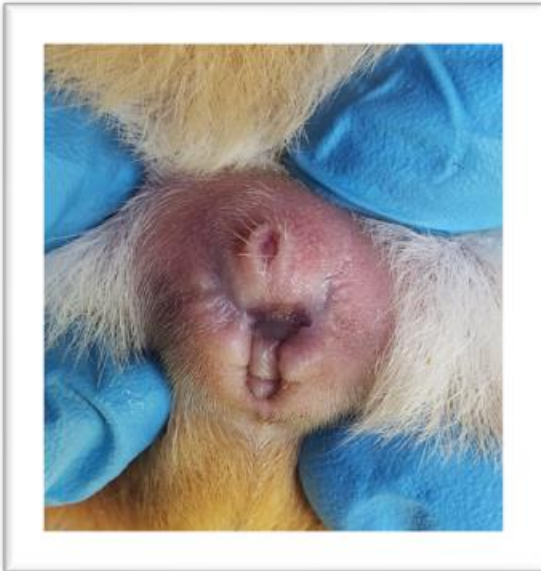


Figura 6: Membrana vaginal con apertura de un 50%, **fuentes:** Autor.

4.5.3 Monta

El día que la hembra se encontró en celo se colocó al macho durante 3 días consecutivos; sin embargo, cada 24h se realizó citología para ver si existía la presencia de espermatozoides y de ser positiva la placa se determinaba como monta efectiva el día anterior.

4.5.4 Protocolo de superovulación

A partir del día 15 (08h00) del protocolo de sincronización del celo (**Figura 8**), las cobayas recibieron 10 UI/kg, por tres días consecutivos (días; 15, 16 y 17) de hormona Menopáusica Humana (hMG) (Merional® Menotropina 150 UI, IBSA, Suiza), vía intraperitoneal.

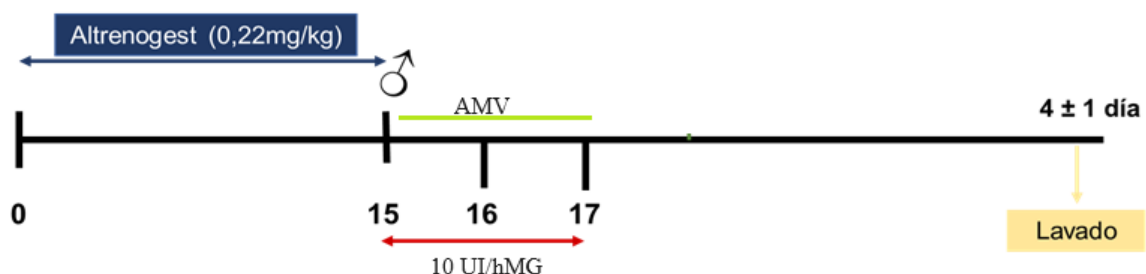


Figura 7: Protocolo de superovulación con hormona menopáusica humana (hMG). AMV=revisión de apertura membrana vaginal. Lavado=colecta de los embriones.

4.5.5 Lavado de embriones

Todas las hembras fueron eutanasiadas según la metodología establecida en el manual (S. E. A. Animalario OMG, 2005), que consistía en la inyección intraperitoneal de pentobarbital sódico a una dosis triplicada de 100 a 150 mg/kg (Penta-Hypnol®, Agrovvetmarket, Perú) 4 días después de la determinación de monta efectiva. Para el lavado del tracto reproductor de la hembra se utilizó la metodología descrita por Shi et al. (2000), que brevemente consistió en rasurar la zona del abdomen y desinfectarlo con una solución jabonosa de yodo. Luego las hembras fueron colocadas en decúbito dorsal y se realizó una incisión de 4 cm a lo largo de la línea alba, a continuación, se localizó el tracto reproductivo de la hembra incluido los ovarios y se extrajo. El útero y los ovarios fueron colocados para el mantenimiento en una solución salina fosfato buffer (PBS) suplementado con suero fetal bovino y mantenido a 37 °C hasta llevarlo al laboratorio para su posterior lavado.

Para el lavado de los oviductos y cuernos uterinos (**Figura 8**) se utilizó medio de lavado de embriones (ViGRO™ complete flush), Las estructuras fueron recolectadas mediante un flushing de los oviductos y las partes consecutivas del útero, brevemente consistió en localizar la zona del infundíbulo abrirlo y con un catéter de 26 G introducir y fijar para el lavado. El lavado se realizó por tres ocasiones con medio de lavado de embriones. Asimismo, en los ovarios se evaluó el número de cuerpos lúteos (**Figura 9**) y de los folículos que no llegaron a ovular (**Figura 10**) para calcular la tasa de recolección de estructuras.



Figura 8: Lavado de oviductos y cuernos uterinos, **fuentes:** Autor.

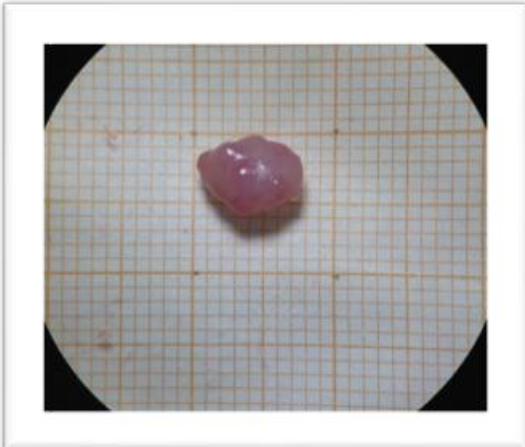


Figura 9: Cuerpo Lúteo (cortesía de Dr. José Luis Pesántez)



Figura 10: Folículos persistentes (cortesía de Dr. José Luis Pesántez)

4.5.6 Valoración morfológica de estructuras colectadas

La valoración y clasificación morfológica de las estructuras se realizó siguiendo la metodología descrita por Shi et al. (2000). La evaluación de las estructuras se ejecutó bajo la luz de un estereomicroscopio (Nikon, Instruments Inc., Japón), con un lente de aumento de 50 a 100x. Primero se clasificaron las estructuras en ovocitos sin fecundar y embriones.



Figura 11: Cargado de los embriones, **fuentes:** Autor.

La calidad de las estructuras se determinó siguiendo las recomendaciones de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones (IETS, por sus siglas en inglés), siguiendo las recomendaciones de Stringfellow & Seidel (1998), adaptándolo a nuestro estudio según las indicaciones de realizada por Ogura et al. (1993).

4.5.7 Trasferencia quirúrgica de los embriones

Las cinco hembras seleccionadas como receptoras recibieron al mismo tiempo un protocolo de sincronización idéntico al descrito anteriormente para las donadoras.

El día de la recolección de embriones las receptoras fueron sometidas a un periodo de 3 horas de ayuno (sin alimento, pero con agua *ad libitum*), una vez transcurrido este tiempo se realizó tricotomía con ayuda de una maquina depiladora y cuchilla # 30, se depiló la zona abdominal, pélvica y la zona del antebrazo para exponer la vena cefálica, la cual fue canalizada con un catéter 26 G, en esta se conectó una bolsa de suero fisiológico 0,9% mediante un equipo de venoclisis.

La pre analgesia se realizó mediante la aplicación subcutánea de Meloxicam a dosis de 0,4 mg/kpv, seguido de una fase de inducción preanestésica con Dexmetomidina previo a la realización del procedimiento se adecuo la zona de quirófano para mantener la temperatura corporal de los animales, para esto se usaron bolsas de agua caliente y se monitoreo la temperatura vía rectal mediante un termómetro.

En la fase anestésica se administró Dexmetomidina a dosis de 0,05mg/Kpv más Ketamina 50mg/kpv (Brown, 1987), una vez que el animal se encontró en plano anestésico se procedió a seccionar con ayuda de un bisturí el flanco lateral en una longitud de 1,5 cm, se introdujo un gancho para OVH (SPAY HOOK) y con ayuda del mismo, se extrajo el cuerno uterino derecho para continuar hasta la bifurcación de los mismos.

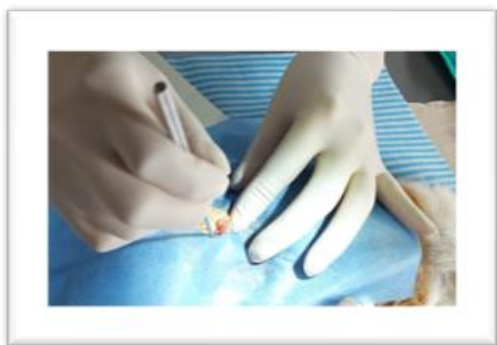


Figura 12: Proceso Quirúrgico, **fuentes:** Autor.

Una vez expuesto el útero se realizó la transferencia de los embriones (TE) en la luz del cuerno uterino para lo cual se utilizó una jeringuilla de 1ml conectada a una aguja con la punta roma (**Figura 13**). Para esto se utilizó una jeringa de insulina con 0,2 ml de solución de manipulación PBS dentro del cual se encontraba el embrión. Se transfirieron 9 embriones, de estos 8 fueron mórulas (3=calidad excelente y 5=calidad buena) y un blastocisto (calidad excelente).



Figura 13: Transferencia de embriones, **fuentes:** Autor.

Luego se introdujo el útero en la cavidad abdominal y se colocó en posición original, inmediatamente se cerró la cavidad, se suturo las 2 capas, la muscular y la piel, para lo cual se empleó hilo 3-0 de ácido poliglicólico.

En la fase post quirúrgica, se monitoreo las constantes fisiológicas para valorar el restablecimiento de la cobaya en los siguientes momentos: (24, 48, 72, 96, 144, 192, 240, 288, 336 horas). Como terapia farmacológica se administró una dosis inyectable de antibiótico (Enrofloxacin) vía subcutánea a dosis de 8mg/kpv. Para el manejo analgésico se empleó meloxicam a dosis de 0,5 mg/kpv vía oral cada 12h durante 3 días y como antibioterapia se aplicó Trimetoprim-sulfa: 30-40mg/kpv vía oral cada 12h durante 6 días (ULAM, 2024)

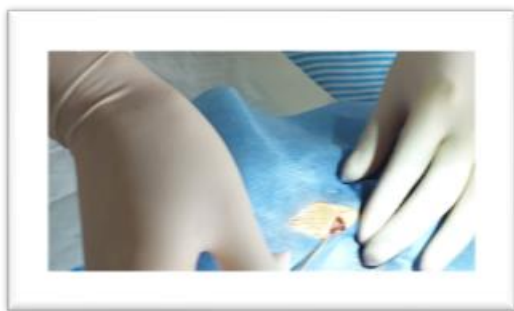


Figura 14: Retorno del útero a su posición normal, **fuentes:** Autor.

4.5.8 Valoración de constantes fisiológicas

- **Frecuencia cardíaca (FC):** fue monitoreada mediante auscultación en el tercer espacio intercostal, con ayuda de un estetoscopio durante un minuto.
- **Frecuencia respiratoria (FR):** fue evaluada mediante de la observación de movimientos respiratorios, acompañado de la auscultación traqueal.
- **Temperatura (T°):** fue valorada mediante un termómetro digital vía rectal, los resultados fueron expresados en grados centígrados (°C).

4.5.9 Valoración de la cicatrización de la herida

El día 15 post cirugía se realizó el retiro de la sutura, previo a lo cual se valoró la cicatrización de la herida en forma visual para ellos se tomaron fotos como respaldo de cada una de las receptoras (n=3).

4.5.10 Determinación del número de cobayas gestantes a los 15 días post transferencia

15 días post transferencia de los embriones se realizó una ecografía para observar si las cobayas quedaron gestantes. Es necesario indicar que una cobaya (N° 13) falleció al día siguiente de la transferencia y una segunda cobaya (N° 2) falleció a las 96h post cirugía. Por lo tanto, fueron valorados ecográficamente 3 receptoras al final del ensayo.

4.5.11 Análisis estadístico

Los datos recolectados fueron tabulados en hojas de cálculo Excel para luego ser analizados estadísticamente mediante el paquete estadístico SPSS versión 25 (IBM, Nueva York, EE.UU.). En un primer apartado se realizará una estadística descriptiva. Se determinó que los datos presentaron normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Para comparar las variables peso y condición corporal se utilizó la prueba de T de Student. Las variables de frecuencia cardíaca, respiratoria y temperatura fueron analizadas mediante la prueba de

ANOVA unidireccional y sus medias comparadas con la prueba de Tukey al 5%. El grado de cicatrización fue descriptivo por cada receptora al igual que el número de gestaciones producto de las transferencias realizadas.

5. Resultados

En el ensayo 10 cobayas se utilizaron como donadoras (grupo 1) y 5 fueron receptoras (grupo 2) al valorar los pesos y condición corporal (CC) se pudo observar que los dos grupos de animales G1 ($1019 \pm 38,69$ g; $2,9 \pm 0,04$ CC) y G2 ($873 \pm 83,46$ g; $2,9 \pm 0,06$ CC) fueron similares sin diferencia estadística ($p>0,05$; Fig. 8; Panel A y B). Esta información permite asegurar que los animales al momento del ensayo presentaron pesos representativos de cobayas con madurez sexual; además, la CC fue alta en una escala de 1 a 5 (2,75), lo cual es indicativo del manejo nutricional de los animales previo al ensayo, estos dos factores en otras especies de interés zootécnico como el bovino afectan la respuesta a la superovulación, así lo mencionó Rosales, (2013), en su estudio realizado en vaquillas Holstein, demostrando que los animales con una CC de 3,5 presentaron más embriones de buena calidad en comparación con aquellas con CC de 2,75, 3 y 3,25, esto basado en el principio fisiológico de que los animales al alcanzar la pubertad aumentan la frecuencia de pulsos de GnRH, lo cual desencadena la liberación de LH desde la hipófisis anterior y esto va a estimular el crecimiento folicular y la ovulación.

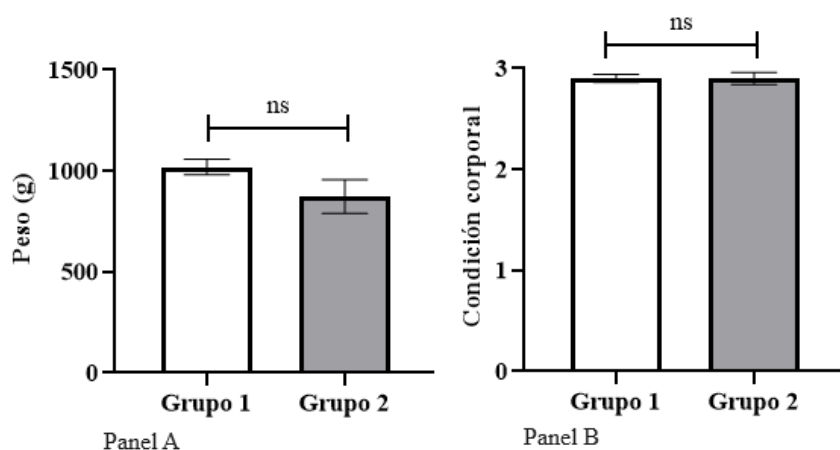


Figura 15: Panel A, pesos medios de las cobayas donadoras (grupo 1) y de las receptoras (grupo 2). Panel B, media de la condición corporal de donadoras y receptoras. ns=no existe diferencia estadística. Prueba de T de Student al 5%.

Las cobayas en general presentaron celo en $1,4 \pm 0,13$ días posteriores a la última dosis de P4 en promedio. Al comparar este parámetro entre cobayas donadoras (G1; $1,4 \pm 0,51$ d) y receptoras (G2; $1,4 \pm 0,54$ d), se observó valores similares ($p>0,05$; Fig. 4). Este resultado muestra que la aparición del celo con la aplicación del protocolo a base de 0,22 mg/kg de

peso vivo de P4 oral durante 15 días que normalmente aparece en promedio a los 2,5 días (Garay et al., 2023), se reduce sustancialmente cuando en el último día de este protocolo se dispone 10 UI de hMG (1,4 d). La hMG al ser una gonadotropina dispone hormona folículo-estimulante (FSH) y luteinizante (LH), en el organismo del animal, esto influyen directamente sobre el crecimiento del folículo, y cuanto más grande es el folículo más estrógenos están presentes, esta hormona es la encargada de provocar los signos y síntomas del celo; además, inicia la retroalimentación positiva en el eje Hipotálamo-hipófisis-ovarios para que se finalice este proceso con la ovulación.

La hipótesis de que el administrar hMG permite un mayor crecimiento de los folículos es corroborado en un trabajo realizado en cobayas superovuladas las cuales recibieron una dosis alta de hMG el día 15 del protocolo de sincronización de la onda folicular y mostraron mayor desarrollo de los folículos al comparar con los animales que recibieron dosis baja de hMG en iguales condiciones (Mayorga, 2024) .

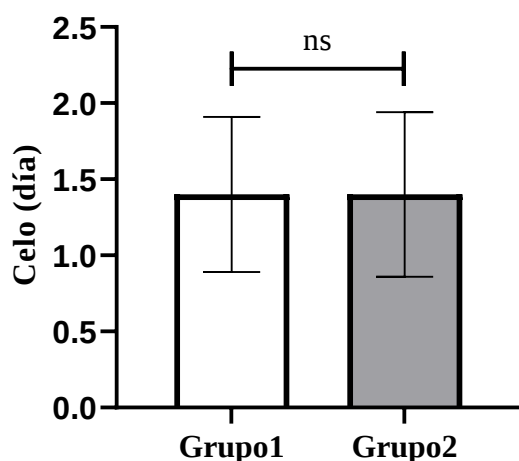


Figura 16: Media y error estándar del día del celo determinado mediante la apertura del 50% de la membrana vaginal. ns=no hay diferencia estadística entre grupos. Prueba de T de Student al 5%.

Para determinar la respuesta al protocolo de superovulación (SOV) se sumó el número de cuerpos lúteos (CLs) más el número de folículos que no llegaron a ovular (>1mm) en cada una de las donadoras. Esta metodología permitió establecer que un 70% de donadoras respondieron al protocolo de SOV, esto considerando que la cobaya es un animal dicótomo (multiovulatorio), con camadas promedio de 2-3. Por lo tanto, para determinar que el animal respondió a la hMG se consideró que debía pasar de 5 folículos presentes con un tamaño

>1mm (suma de CLs y FNO), en este ensayo eso sucedió en las cobayas números 6, 9, 10, 11, 12, 14 y 15 (**Tabla 1**).

Tabla 1: Resultados del número de estructuras, embriones, ovocitos no fecundados (UFO's), colectados en el día del lavado de embriones. Número de folículos no ovulados (FNO) y cuerpos lúteos (CL) observados en los ovarios de las donadoras.

N° Cob	Total Estructuras	Total Embriones	Mórulas	Blastocistos	UFO's	FNO	CL
1	1	0	0	0	1	0	1
3	1	0	0	0	1	0	1
5	1	0	0	0	1	0	2
6	1	1	1	0	0	2	3
9	1	1	1	0	0	3	5
10	1	1	1	0	0	4	2
11	3	3	3	0	0	1	7
12	1	1	0	1	0	2	3
14	2	2	2	0	0	0	5
15	2	2	2	0	0	0	6

El porcentaje de ovulación observado en estas 7 cobayas que respondieron al protocolo de SOV fue del 72%. Sin embargo, el porcentaje de recuperación de las estructuras obtenidas durante el lavado de los cuernos uterinos y oviductos fue apenas del 36%.

Se recuperaron un total de 11 embriones de las 7 donadoras, de estos 10 fueron mórulas tempranas y 1 blastocisto temprano. El estadio de los embriones recuperados (mórulas tempranas) nos lleva a pensar que hubo falla en la determinación del día de la monta efectiva e inicio del desarrollo del neonato (fecundación), ya que como se indicó en la metodología una vez que las donadoras mostraron 50% de apertura de la membrana vaginal (MV) estas fueron colocadas con un macho por tres días consecutivos. Por lo tanto, la ventana de tiempo es muy amplia y eso explicaría por una parte la obtención de embriones de edades tempranas y por otro lado podría estar ligado a la baja cantidad de embriones recuperados ya que una vez que el ovocito es fecundado, el nuevo concepto tiene que trasladarse del ámpula (oviductos) a los cuernos uterinos para la implantación la cual en las cobayas esta descrita

que ocurre a partir del día 4 de gestación. Por lo tanto, si no fue efectiva la fecundación con la primera monta, sino con la tercera, nosotros habríamos lavado donadoras que tenían 2 días de gestación y no 4 días como se planifico, para que los embriones el día del lavado se encuentren en la luz del cuerno uterino, esto por su recorrido fisiológico que ocurre. En los dos días de vida los embriones deben estar en recorrido en oviductos por lo que es menos probable su recuperación, si la técnica no es depurada.

Las 10 mórulas obtenidas presentaron calidad excelente (n=3), buena (n=5) y mala (n=2) y el blastocisto (n=1) fue de calidad excelente. Al establecer media y error estándar del total de embriones colectados en el lavado de las 10 donadoras se determinó una media de $1,5 \pm 0,78$ embriones/lavado. Y se recuperó un 70% más de mórulas en comparación de blastocistos (**Tabla 2**).

Tabla 2: Media y desviación estándar de las estructuras, embriones, mórulas, blastocistos, folículos que no ovularon (FNOv) y cuerpos lúteos (CLs) colectados a los 4 días post-monta.

Detalle	$\bar{X}$	DE	Mínimo	Máximo
<i>Estructuras</i>	1,5	0,71	1	3
<i>Embriones</i>	1,5	0,78	1	3
<i>Mórulas</i>	1,7	0,81	1	3
<i>Blastocistos</i>	1	0	1	1
<i>FNOv</i>	2,4	1,14	1	4
<i>CLs</i>	3,5	2,12	1	7

Valoración de las contantes fisiológicas post cirugía

La FC fue similar en los primeros 4 momentos de valoración: 24h ($227 \pm 9,43$, 48h ($235 \pm 5,14$), 72h ($235 \pm 16,36$) y 96h ($274,6 \pm 10,72$ lpm). A las 144h ($316,6 \pm 8,81$), 192h ($340 \pm 30,55$), 240h ($325,3 \pm 43,89$) y 280h ($326 \pm 3,05$ lpm) la FC se vio incrementada, para luego a las 336h ($300 \pm 5,77$ lpm) disminuir los valores (**Figura 17**).

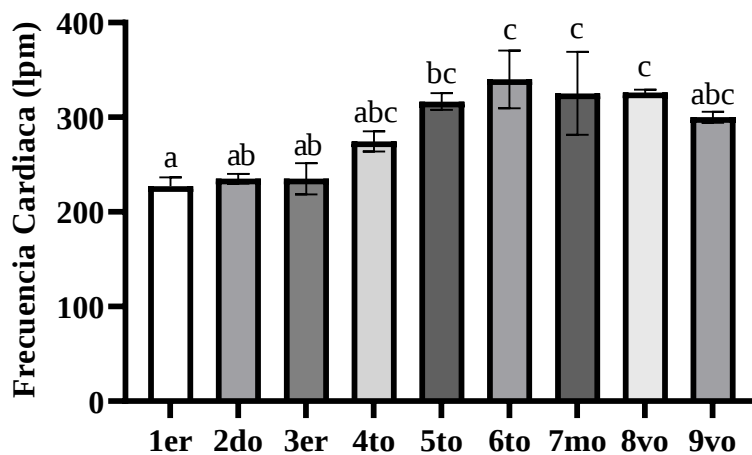


Figura 17: Media y error estándar de la frecuencia cardíaca determinado post operatorio en nueve momentos diferentes (24, 48, 72, 96, 144, 192, 240, 288, 336 horas). abc=diferencia estadística entre momentos de valoración. Prueba de Tukey al 5%.

Otro factor importante a vigilar es la frecuencia cardíaca, la cual en cobayos oscila entre 230 y 380,1 latidos por minuto (lpm), según Grifols, (2015). Un cambio en esta frecuencia, ya sea un aumento o una disminución, podría indicar la presencia de estrés, dolor o problemas cardiovasculares, por lo que es necesario realizar un monitoreo continuo para asegurar el buen funcionamiento del sistema circulatorio (Mahecha, 2021).

La FR valorada en nueve momentos diferentes no presento diferencia estadística entre ellos (Figura 18).

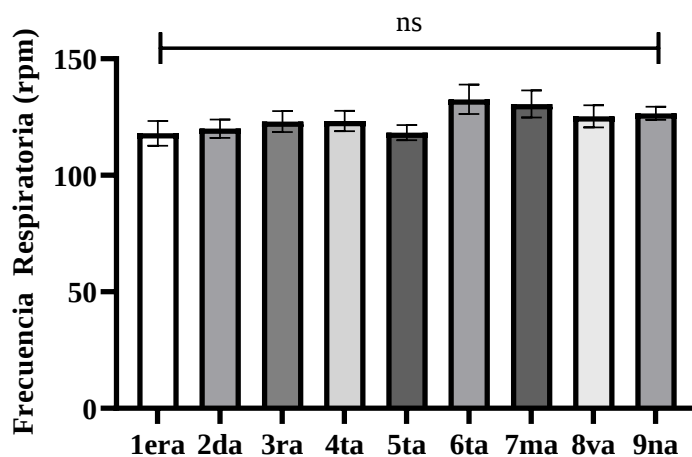


Figura 18: Media y error estándar de la frecuencia respiratoria determinado post operatorio en nueve momentos diferentes (24, 48, 72, 96, 144, 192, 240, 288, 336 horas). ABC=diferencia estadística entre momentos de valoración. Prueba de Tukey al 5%.

La frecuencia respiratoria es un parámetro fundamental, con un rango normal entre 42 y 104 respiraciones por minuto (rpm) (Grifols, 2015). Cualquier irregularidad en el patrón respiratorio podría ser señal de dificultades respiratorias, dolor o problemas pulmonares que deben ser atendidos de inmediato (Mahecha, 2021).

Al valorar la temperatura rectal de las cobayas en nueve momentos diferentes en el post operatorio (**Figura 19**).

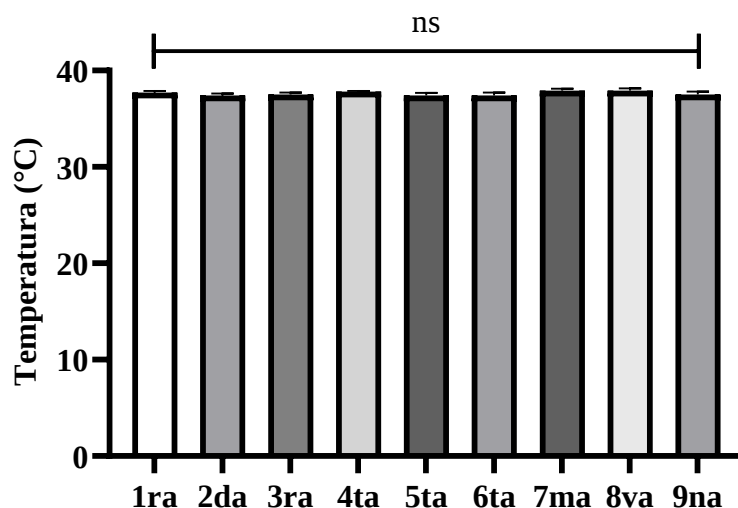


Figura 19: Media y error estándar de la temperatura valorada post operatorio en nueve momentos diferentes (24, 48, 72, 96, 144, 192, 240, 288, 336 horas). abc=diferencia estadística entre momentos de valoración. Prueba de Tukey al 5%.

Según Grifols, (2015), es crucial llevar a cabo un monitoreo constante de los parámetros fisiológicos en los animales para garantizar una correcta recuperación tras una cirugía; un aspecto esencial a controlar es la temperatura corporal, que debe mantenerse entre los 37,2 y 39,5 °C. Cualquier desviación considerable de este rango puede señalar infecciones, inflamación o complicaciones relacionadas con el dolor y el control frecuente de la temperatura permitiría detectar de manera temprana posibles complicaciones postoperatorias (Mahecha, 2021).

Un animal que muestre apatía, desinterés por su entorno o comportamientos anormales podría estar enfrentando complicaciones, mientras que una disminución en el consumo de alimentos y agua puede ser un indicativo de malestar o problemas internos que requieran atención inmediata (Souza & Zapatel, 1986). Por tanto, la combinación de ambos aspectos, fisiológicos y conductuales, es clave para garantizar una recuperación adecuada.

Valoración de la cicatrización de la herida en las cobayas receptoras de embriones

La evaluación de la cicatrización de la herida generada en la cirugía realizada para la TE fue valorada a las 24h post cirugía a las cinco cobayas receptoras en la Tabla 3 se puede observar que a las 24 horas el proceso de cicatrización se venía produciendo en forma correcta excepto en la cobaya número 13 la cual mostro un abdomen inflamado y en la tarde falleció. A las 72h post cirugía falleció la cobaya número 2. A partir de esta fecha se realizó la valoración de la cicatrización únicamente de 3 cobayas las cuales a las 336h muestran una cicatrización sin complicaciones. La muerte de las dos receptoras luego de la necropsia practicada se establece que se debe a problemas de peritonitis.

Tabla 3: Secuencia fotográfica de la valoración de la cicatrización de las receptoras (números: 7, 8, 2, 4 y 13) realizado a las 24, 71 y 336 horas post cirugía.

Momento	N° 7	N° 8	N° 2	N° 4	N° 13
24h					
72h					
336h					

En los cobayos, diversos factores pueden comprometer la cicatrización post operatoria y, en casos graves, llevar a la muerte, entre estos factores se incluyen la infección de la herida, que puede evolucionar a sepsis si no se trata adecuadamente, las reacciones alérgicas a los materiales de sutura o medicamentos, que dificultan la cicatrización, y la dehiscencia de la herida, que expone los órganos internos al riesgo de infección; además, el estrés post quirúrgico, al que estos animales son expuesto, considerando que las cobayas son muy sensibles, puede debilitar su sistema inmunológico, retrasando la recuperación e incrementando el riesgo de infecciones, finalmente, los problemas de coagulación pueden provocar hemorragias internas o externas, complicando la cicatrización y en algunos casos, siendo letales (Weisbroth et al., 1979).

Valoración del número de receptoras que gestaron tras la TE

Se realizó un diagnóstico de gestación de las receptoras mediante ecografía abdominal a los 15 días luego de haber transferido los embriones y se determinó que únicamente la cobaya 4 mostraba signos de útero agrandado y edematoso signo de que hubo reabsorción embrionaria. Las cobayas 7 y 8 el resultado fue negativo y las cobayas 2 y 13 como ya se indicó fallecieron luego de la TE.

Tabla 4: Resultado del diagnóstico de gestación realizado al día 15 post transferencia de los embriones (TE) a las cobayas mediante ecografía abdominal.

Nº Cobayas	Embriones transferidos	Calidad de los embriones	Resultado de la TE
7	2 mórulas	2 excelentes	Negativo
8	2 mórulas	1 excelente y 1 buena	Negativo
2	2 mórulas	2 buenas	Muerta
4	2 mórulas	2 buenas	Reabsorción
13	1 blastocisto	1 blastocisto	Muerta

Se considera un logro inicial haber obtenido una posible gestación de los tres animales que pudieron ser valorados al final del experimento. Cabe señalar que se debe mejorar el proceso de transferencia en esta especie, el protocolo de SOV, la colecta de embriones, ya que todo esto fue afectando durante el proceso de este experimento que a nuestro entender es el primero que se ha realizado. Esto permite abrir las puertas a nuevas ideas y experimentos para llegar a obtener crías de cobayas a través de la TE.

La sincronización entre las donadoras y receptoras es un elemento clave para asegurar el éxito en la transferencia de embriones en cobayos, ya que permite que el entorno reproductivo de la receptora esté en condiciones óptimas para recibir y sustentar al embrión;

es esencial que ambas, donadora y receptora, se encuentren en etapas similares de su ciclo reproductivo, específicamente en el momento adecuado de la fase lútea, ya que durante esta fase el cuerpo lúteo produce progesterona, una hormona crucial para preparar el útero y favorecer la implantación del embrión (Saavedra & Ferro, 2021).

Un desajuste en la sincronización entre la donadora y la receptora puede disminuir significativamente las probabilidades de éxito en la transferencia de embriones, ya que si la receptora no se encuentra en la fase correcta de su ciclo reproductivo, su útero no estará preparado para la implantación, lo que puede provocar la no implantación o un aborto temprano, para evitar esto, se emplean tratamientos hormonales que permiten sincronizar los ciclos de ambas hembras de manera precisa, garantizando que la receptora esté en el momento óptimo para la transferencia, además, es fundamental monitorear de cerca a las receptoras antes de la transferencia para asegurar que la fase lútea se desarrolle adecuadamente (Grégoire et al., 2010).

6. Conclusiones

- La administración de 10 UI de hMG vía intraperitoneal por tres días consecutivos a partir del último día de la sincronización del celo de la cobaya (día 15 del protocolo) permitió obtener una respuesta superovulatoria del 70% de animales; sin embargo, el número de folículos que llegaron a ovular fue bajo.
- La técnica quirúrgica lateral utilizada para la transferencia de los embriones en cobayas receptoras tiene que ser perfeccionada, ya que los resultados que se obtuvieron no fueron alentadores, pues dos de los cinco animales fallecieron por causas ajenas a la TE.
- Para tener éxito en la TE debe realizarse una perfecta sincronización del celo entre las donadoras y las receptoras como se encuentra estandarizado en otras especies. En este experimento los embriones recuperados mostraron edad temprana (embriones de 2 días), situación que no coincide con los cuatro días programados en las receptoras.

7. Referencias

- Armstrong, D., & Opavsky, M. (1988). Superovulation of Immature Rats by Continuous Infusion of Follicle-Stimulating Hormone'. *Biology of Reproduction*, 39, 511–518. <https://academic.oup.com/biolreprod/article/39/3/511/2763594>
- Barahona, M., & Pauta, O. (2012). *Inducción de superovulación en cobayas primerizas, usando gonadotropina sérica con tres dosis diferentes*. Universidad Central del Ecuador.
- Bland, K., & Donovan, B. (1964). Experimental ectopic implantation of eggs and early embryos in guinea-pigs. *Reproduction Fertil*, 10, 189–196. https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/10/2/jrf_10_2_005.xml
- Brown, L. A. (1987). Recirculation anaesthesia for laboratory fish. *Laboratory Animals*, 21, 210–215. <https://doi.org/10.1258/002367787781268846>
- Bustos, E. (2012). Reproducción estacional en el macho. *Int. J. Morphol*, 30(4), 1266–1279. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022012000400004>
- Byers, S. L., Wiles, M. V., Dunn, S. L., & Taft, R. A. (2012). Mouse estrous cycle identification tool and images. *PLoS One*, 7(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035538>
- Calvopiña, A. (2018). *Estudio de factibilidad para la construcción de una sala de faenamiento para cuyes en la empresa Urkuagro Uasak SA. (Cuyera Andina)* [Universidad Central del Ecuador]. <https://www.dspace.uce.edu.ec>
- Centeno, F. (2014). Técnica Lateral Ovariohisterectomía (OVH) lateral. *Redvet*, 15. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet2014Volumen15No02->
<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030314.html> TÉCNICA LATERAL Ovariohisterectomía
- Chauca, L. (1997). *Produccion de Cuyes (Cavia Porcellus)* (Estudios Fao, Vol. 138). Fao. <https://www.fao.org/4/W6562S/W6562S00.htm>
- Colman, A. (2023). *Ovariohisterectomía en cobaya. Cavia porcellus por neoplasia ubicada en útero* [Universidad Nacional del Nordeste]. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.5/ar/>
- Cui, L., Zhang, Z., Sun, F., & Duan, X. (2014). Transcervical embryo transfer in mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 53(3), 228–231. <http://www.paratechs.com/>
- Dávila, A., Mora, C., & Córdoba, C. (2018). Caracterización etológica del cuy (Cavia porcellus) en sistemas de producción tradicional y tecnificado. *Revista Investigación Pecuaria*, 5(1), 5–15. <https://doi.org/10.22267/revip.1851.1>
- Daya, S., Gunby, J., Hughes, E., Collins, J., & Sagle, M. (1995). Follicle-stimulating hormone versus human menopausal gonadotropin for in vitro fertilization cycles:

- a meta-analysis*. *Medicine*, 64(2), 905–524.
[https://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(99\)00519-1/fulltext](https://www.fertstert.org/article/S0015-0282(99)00519-1/fulltext)
- Dorsch, M., Glage, S., & Hedrich, H. (2008). Collection and cryopreservation of preimplantation embryos of *Cavia porcellus*. *Laboratory Animals*, 42(4), 489–494.
<https://doi.org/10.1258/la.2007.007011>
- Espinoza, J., Ortega, R., Palacios, A., Méndez, J., & Aréchiga, C. (2007). Crecimiento folicular ovárico en animales domésticos. *Interciencia*, 32(2).
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33932204>
- Fatet, A., Pellicer-Rubio, M. T., & Leboeuf, B. (2011). Reproductive cycle of goats. *Animal Reproduction Science*, 124(3–4), 211–219.
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.029>
- Ferrin, E. (2022). *Evaluación de la eficiencia de la administración oral de progesterona en la sincronización del celo en cobayas* [Universidad De Cuenca].
<https://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/40179>
- Forde, N., Beltman, M., Lonergan, P., Diskin, M., Roche, J., & Crowe, M. (2011). Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. *Animal Reproduction Science*, 124(3–4), 163–169. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.025>
- Garay, G., Velesaca, P., & Ayala, luis. (2023). Efecto de diferentes dosis de la progesterona oral sobre la sincronización del celo y la ovulación en cobayas. *Genética y Reproducción*.
https://www.researchgate.net/publication/372157085_Efecto_de_diferentes_dosis_de_la_progesterona_oral_sobre_la_sincronizacion_del_celo_y_la_ovulacion_en_cobayas/references
- Garverick, H. A., & Smith, M. F. (1993). Female reproductive physiology and endocrinology of cattle. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 9(2), 223–247. [https://doi.org/10.1016/s0749-0720\(15\)30643-5](https://doi.org/10.1016/s0749-0720(15)30643-5)
- Ginther, O. J. (1974). Internal Regulation of Physiological Processes through Local Venoarterial Pathways: A Review. *Journal of Animal Science*.
<https://academic.oup.com/jas/article-abstract/39/3/550/4667800>
- Grégoire, A., Allard, A., Huamán, E., León, S., Silva, R. M., Buff, S., Berard, M., & Joly, T. (2012). Control of the estrous cycle in guinea-pig (*Cavia porcellus*). *Theriogenology*, 78(4), 842–847.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.03.034>
- Grégoire, A., Huamán, E., Leon, S., Buff, S., Peredo, F., Joly, T., & Allard, A. (2012). First Successful Pregnancy after Embryo Transferin to Synchronized Females in Guinea Pig (*Cavia porcellus*). *Spermova*, 2(1), 42–43.
https://www.researchgate.net/publication/221681764_115_first_successful_pregnancy_after_embryo_transfer_into_synchronized_females_in_Guinea_pig_cavia_porcellus

- Grégoire, A., Joly, T., Huamán, E., Silva, R., & León, S. (2010). Crioconservación de los recursos genéticos del cuy (*Cavia porcellus*): producción y congelación de embriones. *Bulletin de l'Institut Français d'études Andines*, 39 (1), 185–188. <https://doi.org/10.4000/bifea.2164>
- Grifols, J. (2015). *Mamíferos*. https://ecuphar.es/getfile.php?file=Ar_1_8_132_APR.pdf
- Guáqueta H. (2009). Ciclo estral: fisiología básica y estrategias para mejorar la detección de celos. *Rev. Med. Vet. Zoot*, 56, 163–183. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/26847>
- Guzmán, J. (2022). *Prevalencia de enterobacterias en cobayos (Cavia porcellus) en el sistema de producción familiar-comercial mediante diagnóstico microbiológico* [Universidad Politécnica Salesiana]. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/22345>
- Hasler', J., Mccauley', A., Schermerhorn', E., & Foote', R. (1983). Superovulatory responses of Holstein cows. *Theriogenology*. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(83\)90125-5](https://doi.org/10.1016/0093-691X(83)90125-5)
- Humberto, F., & Ruiz, C. (2024). *Efecto de la alimentación en la producción de carne de calidad en cuyes. (Cavia Porcellus)* [Universidad Técnica de Babahoyo]. <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/16240>
- Jimenez, C. (2009). Superovulación: estrategias, factores asociados y predicción de la respuesta superovulatoria en Bovinos. *Revista Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/27987/13769-41299-1-PB.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Kosaka, T., & Takahashi, K. (1989). Effect of Pregnant Mare's Serum Gonadotropin on Increased Ovulation in Guinea Pigs with Synchronized Estrous Cycle. *Journal of Reproduction and Development*. https://doi.org/10.1538/expanim1978.38.1_81
- Logothetopoulos, J., Dorrington, J., & Bailey, D. (1995). Dynamics of Follicular Growth and Atresia of Large Follicles During the Ovarian Cycle of the Guinea Pig: Fate of the Degenerating Follicles, a Quantitative Study. *The Anatomical Record*, 243, 37–48. <https://doi.org/10.1002/ar.1092430106>
- Luna, F., Cortés, M., Flores, M., Hernández, B., Trujillo, A., & Domínguez, R. (2003). The effects of superior ovarian nerve sectioning on ovulation in the guinea pig. *Reproductive Biology and Endocrinology*. <http://www.RBEj.com/content/1/1/61>
- Mahecha, T. (2021). *Análisis de los parámetros fisiológicos de monitoreo en pacientes caninos y felinos internados en la uci en la clínica veterinaria punto vet*. Universidad Cooperativa de Colombia.
- Mayorga, M. S. A. (2024). *Efecto de la administración de diferentes dosis de gonadotropina menopáusica humana (hMG) sobre la respuesta ovárica en cobayas* [Universidad de Cuenca]. <https://dspace.ucuenca.edu.ec/>

- McCready, J. E., Zur Linden, A. R., Singh, A., & Beaufrère, H. H. (2022). Assessment of laparoscopic working space in guinea pigs (*Cavia porcellus*) undergoing carbon dioxide insufflation at different intra-abdominal pressures. *American Journal of Veterinary Research*, 83(9). <https://doi.org/10.2460/ajvr.22.03.0031>
- McNatty, K. P., Smith, D. M., Makris, A., Osathanondh, R., & Ryan, K. J. (1979). The Microenvironment of the Human Antral Follicle: Interrelationships among the Steroid Levels in Antral Fluid, the Population of Granulosa Cells, and the Status of the Oocyte in Vivo and in Vitro*. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 49(6). <https://doi.org/10.1210/jcem-49-6-851>
- Montenegro, F., Oliveira, M., Cristofoli, M., Passos, F., Pizzutto, C., & Chaves, A. (2023). Surgical Anatomy for Sterilization Procedures in Female Capybaras. *Animals*, 13(3). <https://doi.org/10.3390/ani13030438>
- Niswender, G. D., Juengel, J. L., Silva, P. J., Rollyson, M. K., & McIntush, E. W. (2000). Mechanisms Controlling the Function and Life Span of the Corpus Luteum. *Physiological Reviews*, 80. www.physiology.org/journal/physrev
- Oñate, C. (2008). *Evaluación de dos métodos de sincronización del estro en cuyes* [Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/1612>
- Perret-Gentil, M. (2022). *Procedimientos Quirúrgicos Comunes en Roedores*. <https://research.utsa.edu/compliance/larc/training.html>
- Pignon, C., & Mayer, J. (2020). Guinea Pigs Section III Rodents. In *Exotic Animal Medicine for the Veterinary Technician* (pp. 270–297). <http://www.britishcavycouncil>.
- Pohler, K. G., Franco, G. A., Reese, S. T., & Smith, M. F. (2019). Physiology and pregnancy of beef cattle. In *Animal Agriculture: Sustainability, Challenges and Innovations* (pp. 37–55). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817052-6.00003-3>
- Reyes, F., Enríquez, M., Aguiar, S., & Uvidia, H. (2021). Análisis del manejo, producción y comercialización del cuy (*Cavia porcellus* L.) en Ecuador. *Dominio de Las Ciencias*, 7(6), 104–118. <file:///Users/user/Downloads/2377-12002-1-PB.pdf>
- Rizzi, S., Bianchi, P., Guidi, S., Ciani, E., & Bartesaghi, R. (2007). Neonatal isolation impairs neurogenesis in the dentate gyrus of the guinea pig. *Hippocampus*, 17(1), 78–91. <https://doi.org/10.1002/hipo.20247>
- Rosales, F. (2013). *Superovulación en ganado criollo lechero tropical* [Institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas]. http://colposdigital.colpos.mx:8080/jspui/bitstream/handle/10521/1908/Rosales_Martinez_F_MC_Ganaderia_2013.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- S. E. A. Animalario OMG. (2005). *Eutanasia (Rata, ratón, hámster y cobayo)*. <https://nucleus.usal.es/sites/default/files/servicios/sea/formularios/EutanasiaPNSEA4.pdf>
- Saavedra, L., & Ferro, M. (2021). *Selección de receptoras en un programa de transferencia de embriones* [Universidad de la Salle]. https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1967&context=medicina_veterinaria
- Shi, F., Ozawa, M., Komura, H., Watanabe, G., Tsonis, C., Susuki, A., & Taya, K. (2000). Induction of superovulation by inhibin vaccine in cyclic guinea-pigs. *Reproduction and Fertility*, 1–7. <https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/118/1/1.xml>
- Shoham, Z., Balen, A., Patel, A., & Jacobs, H. S. (1991). Results of ovulation induction using human menopausal gonadotropin or purified follicle-stimulating hormone in hypogonadotropic hypogonadism patients. *Fertility and Sterility*, 56(6). [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(16\)54715-3](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)54715-3)
- Souza, H., & Zapatel, J. (1986). *Guía práctica bioterio de cobayos* (OPS/OMS, Ed.; Vol. 14). <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2019/11/699591/44786-guia-practica-bioterio-de-cobayos.pdf>
- Stringfellow, D. A., & Seidel, S. M. (1998). *Manual of the International Embryo Transfer Society*. <https://search.worldcat.org/es/title/Manual-of-the-International-Embryo-Transfer-Society--a-procedural-guide-and-general-information-for-the-use-of-embryo-transfer-technology-emphasizing-sanitary-procedures/oclc/629876742>
- Suzuki, O., Koura, M., Noguchi, Y., Takano, K., Yamamoto, Y., & Matsuda, J. (2003). Optimization of superovulation induction by human menopausal gonadotropin in guinea pigs based on follicular waves and FSH-receptor homologues. *Molecular Reproduction and Development*, 64(2), 219–225. <https://doi.org/10.1002/mrd.10242>
- Suzuki, O., Ogura, A., Asano, T., Noguchi, Y., Yamamoto, Y., & Oike, M. (1993). Development of Preimplantation Guinea-pig Embryos in Serum-free Media. *Reprod. Fertil. Dev*, 5, 425–457. <https://doi.org/10.1071/RD9930425>
- Terranova, P. F., & Greenwald, G. S. (1981). Increased ovulation rate in the cyclic guinea-pig after a single injection of an antiserum to LH. *J. Reprod. Fert.* https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/61/1/jrf_61_1_005.xml
- ULAM. (2024). Guía sobre anestesia y analgesia en cobayos. *University of Michigan*. <https://az.research.umich.edu/animalcare/guidelines/guidelines-anesthesia-and-analgesia-guinea-pigs>
- Verduzco Antonio, & Hernández Francisco. (2005). Utilidad del cobayo como modelo de estudios audiológicos y propuesta de accesos quirúrgicos al oído y cuello. *Cir Ciruj*, 73, 339–344. <https://www.medigraphic.com/pdfs/circir/cc-2005/cc055c.pdf>

Vivas, A. (2013). *Manual de crianza de cobayos*. Universidad Nacional Agraria.
<https://www.researchgate.net/publication/311349387>

Weisbroth, S., Flatt, R., Kraus, A., Wagner, J., Manning, P., Andrews, E., Ward, B., Altman, N., Baker, H., Lindsey, R., Fox, J., Cohen, B., Loew, F., Van, H., Mcpherson, C., Ringler, D., Newcomer, C., Bennett, T., Abee, C., ... Turner, P. (1979). *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents. Nonhuman Primates in Biomedical Research, 1*. www.macmillansolutions.com

8. Anexos



Figura 20: Ecografía pre-sincronización.



Figura 21: Cobayas donadoras y receptoras.



Figura 22: Preparación de materiales para TE.



Figura 23: Determinación de embriones viables para transferencia.

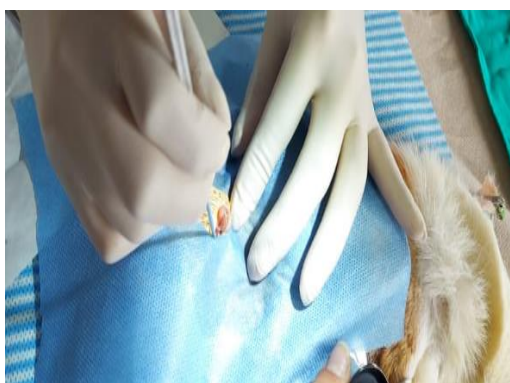


Figura 24: Transferencia de Embriones.



Figura 25: Cobayas en recuperación postcirugía.



Figura 26: Toma de constantes fisiológicas post TE.



Figura 27: Necropsia postmortem cobaya receptora.



Figura 28: Hallazgo durante la necropsia: hongos en el estómago.



Figura 29: Ecografía destinada a confirmar una posible preñez.