



11664  
**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

RECIBIDO  
1995

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN**

**EVALUACIÓN DE LA ACCIÓN PROGONADOTRÓPICA  
DE DOS ANÁLOGOS DE  
MELATONINA EN OVEJAS**

**FALLA DE ORIGEN**

**T E S I S**  
**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRA EN PRODUCCIÓN ANIMAL  
(OVINOS Y CAPRINOS)**

**P R E S E N T A :**  
**MARÍA DE LA LUZ NAVARRO MONTES DE OCA**

**ASESORES: CARLOS MANUEL ROMERO RAMÍREZ  
ARCELIA RITA DEL CASTILLO RODRÍGUEZ**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVENIDA DE  
MEXICO

# FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES-CUAUTITLAN

COORDINACION GENERAL DE ESTUDIOS DE POSGRADO

## CARTA DE VOTOS APROBATORIOS

Coordinación General de Estudios de Posgrado  
FES - Cuautitlán  
Presenta.

Por medio de la presente nos permitimos comunicar a usted que revisamos la tesis titulada "EVALUACION DE LA ACCION PROGNADOTROPICA DE DOS ANALOGOS DE MELATONINA (MELATONINA CARBOXILADA Y 5 METOXITR(PTAMINA) EN OVEJAS"

que presenta el (la) alumno (a) MARIA DE LA LUZ NAVARRO MONTES DE CCA

con Núm. de cuenta 8656091-1 N° Exp. 100921004

para obtener el grado de MAESTRO EN PRODUCCION ANIMAL

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el Examen de Grado correspondiente, otorgamos el voto aprobatorio.

Atentamente  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

CUAUTITLAN IZCALLI a 17 de MAYO de 1995

### NOMBRE DE LOS SINODALES

PRESIDENTE: M.C. JOSE LUIS ROMANO

VOCAL: M.C. RAUL AGUILAR ROBLERO

SECRETARIO DR. RAYMUNDO RANGEL S.

1er. SUPL. M.C. ROSALBA SOTO

2do. SUPL. M.C. RITA DEL CASTILLO

*Boletín*  
*Raymundo Rangel S.*  
*Rosalba Soto*  
*Rita del Castillo* 21/04/95

## AGRADECIMIENTOS

M.C. Jorge Haro Castellanos por haber proporcionado la melatonina y los análogos empleados en el trabajo.

MVZ. Carlos Romero Ramírez por su disposición para el asesoramiento del trabajo y por su invaluable amistad.

Biol. Gabriela López, por tu asesoría en la realización del Radioinmunoanálisis, tus atinados comentarios y tu amistad. Te quiero mucho.

M.C. Arturo Trejo González, M.C. Rosalba Soto González y M.C. Alfredo Medrano, por su amplia colaboración en el muestreo sanguíneo y su apoyo desinteresado en la realización del trabajo. Mil gracias por sus atinadas aportaciones y su amistad. Los quiero mucho.

M.C. Patricia Gutiérrez y sus alumnos de la materia de nutrición del semestre 93-I, por su apoyo en el muestreo sanguíneo y desarrollo del trabajo de campo.

M.C. Jorge Bermúdez Estevez, coordinador de la maestría, por permitir el trabajo con los animales e instalaciones de la FES-Cuautitlán.

A mis amigos: MVZ. Celestino Gómez Alcántara, MVZ. Graciela Castañeda Aceves, MVZ. Manuel Delgado Estrella, MVZ. Rossina Ramos Vera, MVZ. Guadalupe Mondragón Olvera, MVZ. Hortensia Verdín Sánchez, MVZ. Rubén Rodríguez López, MVZ. Ana Martínez Haro, MVZ. Teresa Barajas Bolaños, y MVZ. Ma. Reyna de la Rosa, por su colaboración desinteresada en los muestreos sanguíneos y en el desarrollo del trabajo. Los quiero mucho.

A los alumnos de servicio social de la Cátedra de reproducción y genética ovina y caprina: MVZ. José Luis Sánchez Anaya, MVZ. Martín Hernández Guzmán, pMVZ. Claudia B. Cortés González y pMVZ. Jorge A. Pacheco Simón, por su colaboración en los muestreos sanguíneos. Gracias por su amistad.

A todos los sinodales, por sus acertados comentarios para la corrección del trabajo.

A la Dra. Susana Mendoza, por su disposición absoluta en la realización de los trámites de titulación.

Este trabajo fue parcialmente apoyado por los convenios DGICSA-SEP y CoNaCyT P219 COOL880224.

## **MANIFIESTO DE RENUNCIA A LA MUERTE Y AL ERROR**

Yo...soy inocente. El amor de Dios, quien me creó con la libertad, me regaló la posibilidad de equivocarme. Creer que era culpable de algo fue un error, un error mental nada mas. No había malicia en mi, el amor de Dios me contemplaba pacientemente, sabiendo que tarde o temprano me daría cuenta y rectificaría, y así ha sido. No hay, ni ha habido nunca culpa en mi, el amor de Dios lo sabe y lo ha sabido siempre. Nunca tuvo, pues, que perdonarme. Solo esperaba tranquilo y amoroso. Yo, en mi error, use la libertad para dudar, para encolerizarme y para crearme el sentimiento de culpabilidad y este ha sido, y no otro, el origen de todos mis sufrimientos.

Ahora, en que mi nueva conciencia permite que me limpie de ese sentimiento, estoy dispuesta a aceptar con alegría y con agradecimiento el don maravilloso que he llevado conmigo, sin saberlo, desde mis orígenes: **La libertad de ser yo misma.**

Ya nada me puede hacer dudar de mi derecho a manifestarme con naturalidad en todo momento y circunstancia, solo pido ayuda para poder superar, paso a paso los miedos y las trampas que todavía sea capaz de crearme en un futuro inmediato, mientras dure mi purificación.

Gracias por la vida, gracias por haberme imaginado, gracias por esta recién estrenada y aun tambaleante nueva conciencia.

Ma. Luisa Pérez  
Barcelona, Cataluña.

# ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
ANTECEDENTES	3
1. CONTROL ENDÓCRINO DEL CICLO ESTRAL OVINO	3
2. RITMOS BIOLÓGICOS Y GLÁNDULA PINEAL	6
3. LA GLÁNDULA PINEAL COMO TRANSDUCTOR DE LA LUZ	11
3.1. DESCRIPCIÓN ANATÓMICA DE LA GLÁNDULA PINEAL	11
3.2. ESTRUCTURA, BIOSÍNTESIS Y CONTROL DE LA SECRECIÓN DE MELATONINA	13
3.3. LA ACCIÓN BIVALENTE DE LA MELATONINA EN REPRODUCTORES DE DÍAS CORTOS Y REPRODUCTORES DE DÍAS LARGOS	16
4. MECANISMOS NEUROENDÓCRINOS RESPONSABLES DE LA ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA DE LAS OVEJAS	19
4.1. HALLAZGOS POR TRANSFERENCIA INTERHEMISFÉRICA Y/O MANIPULACIÓN DEL FOTOPERIODO	23
4.2. HALLAZGOS POR MEDICIÓN DE HORMONAS REPRODUCTIVAS	30
4.2.1. GONADOTROFINAS, PROLACTINA Y ESTEROIDES	30
4.2.2. MELATONINA	33
4.2.3. TRABAJOS INTEGRATIVOS	38
4.3. HALLAZGOS POR EXTIRPACIÓN QUIRÚRGICA O LESIÓN SOBRE ESTRUCTURAS NERVIOSAS	39
4.3.1. GLÁNDULA PINEAL	39
4.3.2. GANGLIO CERVICAL SUPERIOR, NÚCLEO SUPRAQUIASMÁTICO Y TRACTO RETINOHIPOTÁLAMICO	42
4.3.3. TRABAJOS INTEGRATIVOS	48
4.4. ESTUDIOS EN CORDEROS	49
5. APLICACIONES DE LA MELATONINA EN PEQUEÑOS RUMIANTES	52
5.1. ADELANTO DE LA PUBERTAD Y RUPTURA DEL ANESTRO	52
5.2. MEJORAMIENTO DE LA EFICIENCIA DEL REBAÑO	58
6. APLICACIONES DE LOS ANÁLOGOS DE MELATONINA	60
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA E HIPÓTESIS	63
MATERIAL Y MÉTODOS	65
RESULTADOS	71
DISCUSIÓN	79
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	83
LITERATURA CITADA	84
APÉNDICE I	96

## AGRADECIMIENTOS

M.C. Jorge Haro Castellanos por haber proporcionado la melatonina y los análogos empleados en el trabajo.

MVZ. Carlos Romero Ramírez por su disposición para el asesoramiento del trabajo y por su invaluable amistad.

Biol. Gabriela López, por tu asesoría en la realización del Radioinmunoanálisis, tus atinados comentarios y tu amistad. Te quiero mucho.

M.C. Arturo Trejo González, M.C. Rosalba Soto González y M.C. Alfredo Medrano, por su amplia colaboración en el muestreo sanguíneo y su apoyo desinteresado en la realización del trabajo. Mil gracias por sus atinadas aportaciones y su amistad. Los quiero mucho.

M.C. Patricia Gutiérrez y sus alumnos de la materia de nutrición del semestre 93-I, por su apoyo en el muestreo sanguíneo y desarrollo del trabajo de campo.

M.C. Jorge Bermúdez Estevez, coordinador de la maestría, por permitir el trabajo con los animales e instalaciones de la FES-Cuautitlán.

A mis amigos: MVZ. Celestino Gómez Alcántara, MVZ. Graciela Castañeda Aceves, MVZ. Manuel Delgado Estrella, MVZ. Rossina Ramos Vera, MVZ. Guadalupe Mondragón Olvera, MVZ. Hortensia Verdin Sánchez, MVZ. Rubén Rodríguez López, MVZ. Ana Martínez Haro, MVZ. Teresa Barajas Bolaños, y MVZ. Ma. Reyna de la Rosa, por su colaboración desinteresada en los muestreos sanguíneos y en el desarrollo del trabajo. Los quiero mucho.

A los alumnos de servicio social de la Cátedra de reproducción y genética ovina y caprina: MVZ. José Luis Sánchez Anaya, MVZ. Martín Hernández Guzmán, pMVZ. Claudia B. Cortés González y pMVZ. Jorge A. Pacheco Simón, por su colaboración en los muestreos sanguíneos. Gracias por su amistad.

A todos los sinodales, por sus acertados comentarios para la corrección del trabajo.

A la Dra. Susana Mendoza, por su disposición absoluta en la realización de los trámites de titulación.

Este trabajo fue parcialmente apoyado por los convenios DGICSA-SEP y CoNaCyT P219 COOL880224.

## MANIFIESTO DE RENUNCIA A LA MUERTE Y AL ERROR

Yo...soy inocente. El amor de Dios, quien me creó con la libertad, me regaló la posibilidad de equivocarme. Creer que era culpable de algo fue un error, un error mental nada mas. No había malicia en mí, el amor de Dios me contemplaba pacientemente, sabiendo que tarde o temprano me daría cuenta y rectificaría, y así ha sido. No hay, ni ha habido nunca culpa en mí, el amor de Dios lo sabe y lo ha sabido siempre. Nunca tuvo, pues, que perdonarme. Solo esperaba tranquilo y amoroso. Yo, en mi error, use la libertad para dudar, para encolerizarme y para crearme el sentimiento de culpabilidad y este ha sido, y no otro, el origen de todos mis sufrimientos.

Ahora, en que mi nueva conciencia permite que me limpie de ese sentimiento, estoy dispuesta a aceptar con alegría y con agradecimiento el don maravilloso que he llevado conmigo, sin saberlo, desde mis orígenes: **La libertad de ser yo misma.**

Ya nada me puede hacer dudar de mi derecho a manifestarme con naturalidad en todo momento y circunstancia, solo pido ayuda para poder superar, paso a paso los miedos y las trampas que todavía sea capaz de crearme en un futuro inmediato, mientras dure mi purificación.

Gracias por la vida, gracias por haberme imaginado, gracias por esta recién estrenada y aun tambaleante nueva conciencia.

Ma. Luisa Pérez  
Barcelona, Cataluña.



# ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
ANTECEDENTES	3
1. CONTROL ENDÓCRINO DEL CICLO ESTRAL OVINO	3
2. RITMOS BIOLÓGICOS Y GLÁNDULA PINEAL	6
3. LA GLÁNDULA PINEAL COMO TRANSDUCTOR DE LA LUZ	11
3.1. DESCRIPCIÓN ANATÓMICA DE LA GLÁNDULA PINEAL	11
3.2. ESTRUCTURA, BIOSÍNTESIS Y CONTROL DE LA SECRECIÓN DE MELATONINA	13
3.3. LA ACCIÓN BIVALENTE DE LA MELATONINA EN REPRODUCTORES DE DÍAS CORTOS Y REPRODUCTORES DE DÍAS LARGOS	16
4. MECANISMOS NEUROENDÓCRINOS RESPONSABLES DE LA ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA DE LAS OVEJAS	19
4.1. HALLAZGOS POR TRANSFERENCIA INTERHEMISFÉRICA Y/O MANIPULACIÓN DEL FOTOPERIODO	23
4.2. HALLAZGOS POR MEDICIÓN DE HORMONAS REPRODUCTIVAS	30
4.2.1. GONADOTROFINAS, PROLACTINA Y ESTEROIDES	30
4.2.2. MELATONINA	33
4.2.3. TRABAJOS INTEGRATIVOS	38
4.3. HALLAZGOS POR EXTIRPACIÓN QUIRÚRGICA O LESIÓN SOBRE ESTRUCTURAS NERVIOSAS	39
4.3.1. GLÁNDULA PINEAL	39
4.3.2. GANGLIO CERVICAL SUPERIOR, NUCLEO SUPRAQUIASMÁTICO Y TRACTO RETINOHIPOTALÁMICO	42
4.3.3. TRABAJOS INTEGRATIVOS	48
4.4. ESTUDIOS EN CORDEROS	49
5. APLICACIONES DE LA MELATONINA EN PEQUEÑOS RUMIANTES	52
5.1. ADELANTO DE LA PUBERTAD Y RUPTURA DEL ANESTRO	52
5.2. MEJORAMIENTO DE LA EFICIENCIA DEL REBAÑO	58
6. APLICACIONES DE LOS ANÁLOGOS DE MELATONINA	60
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA E HIPÓTESIS	63
MATERIAL Y MÉTODOS	65
RESULTADOS	71
DISCUSIÓN	79
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	83
LITERATURA CITADA	84
APÉNDICE 1	96

## LISTA DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1. Endocrinología del ciclo estral de la oveja	4
Figura 2. Corte sagital del cerebro ovino mostrando la ubicación de la glándula pineal con respecto a otras estructuras anatómicas	12
Figura 3. Síntesis de melatonina dentro de los pinealocitos	14
Figura 4. Bases neuroendócrinas de la reproducción estacional en la oveja	15
Figura 5. Relación entre los ojos y la glándula pineal de los mamíferos teorizada por Descartes a mediados del siglo XVII	22
Figura 6. Estructura química de la melatonina y los análogos empleados	67
Figura 7. Animales con por lo menos un pico de $P_4 > 1.0$ ng/ml	73
Figura 8. Concentraciones de $P_4$ en el día 4 de tratamiento	73
Figura 9. Animales con perfil cíclico de $P_4$	74
Figura 10. Animales con perfil cíclico regular de $P_4$	74
Figura 11. Ovejas con perfil cíclico de $P_4$ en el grupo Cx	75
Figura 12. Ovejas con perfil cíclico de $P_4$ en el grupo M	76
Figura 13. Ovejas con perfil cíclico de $P_4$ en el grupo MC	77
Figura 14. Ovejas con perfil cíclico de $P_4$ en el grupo 5-MT	78
Figura 15. Redes de triangulación geodésica	97
Figura 16. Las zonas astronómicas según Erwin Raisz	99
Figura 17. La sucesión de los días y las noches según Erwin Raisz	99
Figura 18. Los solsticios y los equinoccios según Pettersen	101
Figura 19. Las estaciones según Erwin Raisz	101
Tabla 1. Concentraciones de $P_4$ durante el estudio	71

## RESUMEN:

La actividad progonadotrópica de dos análogos de melatonina fue evaluada. Se utilizaron 56 ovejas (44 Rambouillet y 12 Suffolk) distribuidas en 4 bloques de raza y edad que recibieron durante 30 días los siguientes tratamientos (Tx)/animal/día: 2 mg de melatonina (M); 1.6 mg de melatonina carboxilada (MC); 2.37 mg de 5-metoxitriptamina (5-MT); agua en el grupo control (Cx). Para evaluar la actividad ovárica en respuesta a los Tx, se tomaron muestras sanguíneas por venopunción yugular y el suero fue congelado a -20 C hasta la determinación de progesterona (P<sub>4</sub>) por radioinmunoanálisis. Los resultados se sometieron a análisis de varianza y de autocorrelación. Se contabilizó el número de animales que presentaron por lo menos un pico de P<sub>4</sub> > 1.0 ng/ml. Las diferencias fueron evaluadas por Q de Cochran y prueba de Fisher. Antes y durante el Tx, las concentraciones de P<sub>4</sub> fueron semejantes entre los grupos y solo en el MC la concentración de esta hormona pos-Tx fue significativamente menor al resto de los grupos. El análisis dentro de grupos por período de Tx no detectó diferencias en los grupos M y Cx. En el grupo MC se observó un incremento de P<sub>4</sub> durante el período de Tx, seguido de la disminución pos-Tx. En el grupo 5-MT solo hubo incremento de P<sub>4</sub> durante el período pos-Tx. La M indujo un 57 % más de animales con picos de P<sub>4</sub> > 1.0 ng/ml respecto al grupo Cx (p < 0.05); mientras que el Tx con MC y 5-MT no logró incrementos en forma significativa (29 % y 14 %, respectivamente). En el día 4 de Tx se presentaron picos de P<sub>4</sub> en todos los grupos, siendo mayor en el grupo M (3.46 ± 0.56 ng/ml), aunque solo fue diferente (p < 0.05) al grupo 5-MT (2.05 ± 0.33 ng/ml). El número de animales con perfil cíclico (PC) de P<sub>4</sub> (regular e irregular) fue similar entre grupos. El número de animales con PC regular de P<sub>4</sub> fue: M 3/14; Cx 1/14; MC y 5-MT 0/14 (p < 0.1). El número de animales con PC irregular de P<sub>4</sub> fue: Cx 1/14; M 0/14; MC 3/14; 5-MT 2/14.

para aminorar la estacionalidad reproductiva de las ovejas. Se revisarán el control endócrino del ciclo estral en la oveja, los mecanismos neuroendócrinos responsables de su estacionalidad reproductiva y finalmente algunos de los trabajos que demuestran la acción progonadotrópica de la melatonina en ésta especie.

## ANTECEDENTES

### 1. CONTROL ENDÓCRINO DEL CICLO ESTRAL OVINO.

El ciclo estral de la oveja se presenta cada 16 a 17 días (rango 14 a 19 días) y se divide en dos fases (Evans and Maxwell, 1987): Fase folicular y Fase lútea (Figura 1).

1) Fase folicular, que es el periodo de crecimiento folicular. Tiene una duración muy corta que va de 3 a 4 días. Esta fase se encuentra bajo el control de dos gonadotrofinas liberadas por la hipófisis, la Hormona Folículo Estimulante (FSH) y la Hormona Luteinizante (LH), mismas que promueven el crecimiento folicular y la eventual secreción de estrógenos (E2). Al principio de esta fase el nivel sanguíneo de E2 es relativamente bajo, lo cual tiene un efecto de retroalimentación negativa sobre la glándula hipófisis para la secreción de gonadotrofinas. Ello ayuda a prevenir la estimulación excesiva de los ovarios. Conforme avanza esta fase, el nivel de E2 se eleva, lo cual desencadena la liberación de LH por la hipófisis. Esta elevación preovulatoria de LH, origina cambios en la pared folicular, causando su ruptura y la liberación del ovocito. La LH también provoca la maduración meiótica del ovocito (ovocito primario a secundario).

La circulación sanguínea de E2 en la sangre durante la fase folicular es la responsable del comportamiento de estro. Ocurre un pico de E2 justo antes del inicio

## INTRODUCCIÓN

En las explotaciones ovinas con frecuencia se presenta la necesidad de acortar el intervalo entre partos, ya sea de manera temporal o definitiva. Para lograrlo, se hace necesario controlar los factores que inciden en la duración del intervalo entre parto-concepción, dentro de los cuales destaca la estacionalidad, condición y peso vivo de la hembra, la época del año y el anestro postparto. El factor más importante que determina este parámetro es la estacionalidad reproductiva, esto es que las hembras sólo sean capaces de reproducirse durante un periodo limitado del año (Contreras y col., 1989; Pijoan, 1984).

A altas latitudes es muy notoria la relación existente entre el fotoperiodo y el inicio y extensión de la actividad sexual de las ovejas, mientras que en latitudes cercanas al Ecuador como lo es el caso de México, las ovejas presentan comportamiento reproductivo a lo largo del año, aunque aún conservan cierta estacionalidad que además de ser consecuencia del fotoperiodo se rige por otros factores ambientales tales como la lluvia y disponibilidad alimenticia. De este modo, aún cuando el comportamiento reproductivo es continuo a través del año, en ocasiones el número de animales ciclantes no rebasa un 30 ó 40%. Conociendo lo anterior, el presente trabajo está encausado a la valoración de la acción progonadotrópica de dos análogos de melatonina, para inducir actividad ovárica en ovejas, esto es, aumentar el número de animales ciclantes en el rebaño. Actualmente, se sabe que la melatonina ejerce una actividad progonadotrópica en la oveja y la cabra, mientras que en especies reproductoras de días largos su actividad es antigonadotrópica. Para llegar al conocimiento de estas diferencias se ha recorrido un largo camino en la investigación. A continuación se realizará una revisión de los principales aspectos que han sido estudiados y de la posibilidad de utilizar farmacológicamente análogos de melatonina

para aminorar la estacionalidad reproductiva de las ovejas. Se revisarán el control endócrino del ciclo estral en la oveja, los mecanismos neuroendócrinos responsables de su estacionalidad reproductiva y finalmente algunos de los trabajos que demuestran la acción progonadotrópica de la melatonina en ésta especie.

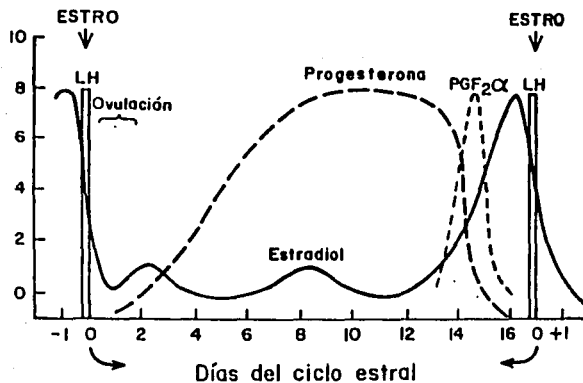
## ANTECEDENTES

### 1. CONTROL ENDÓCRINO DEL CICLO ESTRAL OVINO.

El ciclo estral de la oveja se presenta cada 16 a 17 días (rango 14 a 19 días) y se divide en dos fases (Evans and Maxwell, 1987): Fase folicular y Fase lútea (Figura 1).

1) Fase folicular, que es el periodo de crecimiento folicular. Tiene una duración muy corta que va de 3 a 4 días. Esta fase se encuentra bajo el control de dos gonadotropinas liberadas por la hipófisis, la Hormona Foliculo Estimulante (FSH) y la Hormona Luteinizante (LH), mismas que promueven el crecimiento folicular y la eventual secreción de estrógenos (E2). Al principio de esta fase el nivel sanguíneo de E2 es relativamente bajo, lo cual tiene un efecto de retroalimentación negativa sobre la glándula hipófisis para la secreción de gonadotropinas. Ello ayuda a prevenir la estimulación excesiva de los ovarios. Conforme avanza esta fase, el nivel de E2 se eleva, lo cual desencadena la liberación de LH por la hipófisis. Esta elevación preovulatoria de LH, origina cambios en la pared folicular, causando su ruptura y la liberación del ovocito. La LH también provoca la maduración meiótica del ovocito (ovocito primario a secundario).

La circulación sanguínea de E2 en la sangre durante la fase folicular es la responsable del comportamiento de estro. Ocurre un pico de E2 justo antes del inicio



**Figura 1. Endocrinología del ciclo estral de la oveja (Tomado de Mc Donald, 1975).**

del estro. Mientras tanto, el pico preovulatorio de LH ocurre tempranamente en el estro y es seguido por ovulación de 18 a 24 horas después. Por otra parte la madurez folicular origina la producción de la hormona inhibina por el ovario, lo cual inhibe la secreción de FSH hipofisiaria. Ello previene el crecimiento de folículos adicionales en presencia de folículos de Graaf (maduros) y ayuda a limitar la tasa ovulatoria.

**Estro y tiempo de ovulación.**- En la oveja prácticamente el único signo de estro es el hecho de dejarse montar por el macho. Durante el estro aumenta el afluente sanguíneo y actividad secretora de las glándulas uterinas, cervicales y vaginales. La vulva y la vagina pueden estar congestionadas y hay abundante secreción de moco. La duración del estro en la oveja varía de 18 a 72 horas, dependiendo de la raza, edad, localización geográfica y contacto con los machos. El estro es más corto en ovejas inmaduras que maduras (24 y 32 horas), y lo es también en razas Británicas que en Merinos (24 y 42 horas). Estros más cortos se presentan en hembras constantemente expuestas al macho que en aquéllas en las que la exposición es intermitente. El tiempo de ovulación se relaciona con el inicio del estro. En Merinos, normalmente ocurre entre 25 y 30 horas después del inicio del estro. Dicha ovulación ocurre tardíamente durante el estro. En hembras con periodo estral corto, puede ocurrir después del final del estro. Si existen dos o más folículos maduros el ovario libera a éstos con un espaciamiento entre sí de 2 a 3 horas.

2) Fase lútea (periodo de cuerpo lúteo). Esta fase ocupa el resto del ciclo (alrededor de 13 días). Consiste en un periodo de luteinización que se da de la siguiente manera: La ovulación es seguida por la formación de un cuerpo hemorrágico bajo la influencia de LH, misma que propicia que las células de la granulosa en la pared del folículo roto proliferen y se transformen en células lúteas quienes "rellenan" el antro folicular. Así, a los 4 ó 5 días el cuerpo hemorrágico se transforma en un sólido cuerpo amarillo.



El cuerpo lúteo (CL) secreta progesterona ( $P_4$ ), la cual prepara al útero para recibir al óvulo fertilizado. El nivel de  $P_4$  alcanza un pico después de los 6 días en promedio, y permanece alto a través de la gestación en animales que sí concibieron, mientras que en aquéllos que no concibieron el CL decrece en tamaño después de 11 a 12 días y palidece (albicans), con lo que la secreción de  $P_4$  comienza a caer. Un nivel alto de  $P_4$  sanguínea tiene una influencia inhibitoria en la secreción de gonadotrofinas por la hipófisis y el crecimiento folicular se limita. Al final de la fase lútea dicha inhibición es eliminada, lo cual genera una nueva onda de crecimiento folicular y la presencia de un nuevo ciclo.

El término de la actividad lútea se encuentra a cargo de la prostaglandina  $F_{2\alpha}$ , la cual es producida por el útero. Si el animal se encuentra gestante, la producción de prostaglandina  $F_{2\alpha}$  se suprime y el CL permanece activo.

## 2. RITMOS BIOLÓGICOS Y GLÁNDULA PINEAL

Es evidente el hecho de que los seres vivos experimentan ritmos diarios en los cuales sus actividades se encuentran en estrecha relación con el día astronómico, por ejemplo, las aves y mariposas en general presentan mayor actividad durante las horas luz del día, mientras que los pequeños mamíferos son más activos durante la noche. Sin embargo, por años los científicos han observado los ritmos diarios de diferentes seres vivos con la noción preconcebida de que esos ritmos les son impuestos por el medio físico, por ejemplo que "las aves comienzan su canto cuando sale el sol", o que "los grillos cantan cuando oscurece el día", lo cual puede ser completamente asegurado en el sentido literal, pero no implica que los organismos se encuentren en una posición pasiva y que su actividad sea forzada por el ambiente. Por el contrario, los seres vivos poseen sistemas internos de medición del tiempo muy exactos o "relojes". Así, el medio sólo actúa sobre estos para "corregir" el tiempo (Menaker and

Eskin, 1968). Se sabe por ejemplo, que los embriones de pollo muestran ritmos diarios mientras se encuentran en el huevo, ya que estos siguen ritmos de movimiento de acuerdo al periodo de luz-obscuridad (Harker, 1964).

Los organismos poseen la habilidad endógena para ser periódicos. Incluso existe evidencia de que los ritmos diarios persisten aún cuando a estos se les lleve de un ambiente natural a uno controlado y con condiciones constantes. Sin embargo, es casi imposible en la naturaleza tener un medio con condiciones perfectamente constantes (Menaker and Eskin, 1968).

Dentro de los ritmos biológicos de los organismos, al periodo de oscilación endógena que se encuentra limitado al periodo de el día solar (24 horas) se le conoce como ritmo circadiano. Con base en este, existen otras dos clases: 1) Ritmos ultradianos (menores de 24 horas), y 2) Ritmos infradianos (mayores de 24 horas). Un ejemplo claro de los ritmos ultradianos es la frecuencia cardíaca (alrededor de 1 segundo); por otro lado, una muestra de los ritmos infradianos son los ritmos circanuales, los cuales son la oscilación endógena que persiste en condiciones de estacionalidad constantes, por ejemplo 12 horas luz (hL) : 12 horas obscuridad (hO) y temperatura constante con un periodo aproximado de un año (Elliott and Goldman, 1982).

Una gran variedad de organismos experimentan cambios estacionales en su fisiología y comportamiento, los cuales les permiten adaptarse a ciclos anuales acordes a múltiples factores ambientales tales como temperatura, lluvia y disponibilidad alimenticia (Elliott and Goldman, 1982). También se consideran importantes la intensidad de la luz, la presión barométrica, el campo magnético y la ionización del aire (Menaker and Eskin, 1968).

Los "relojes internos", en términos de supervivencia poseen un enorme valor, ya que sirven para mantener los ciclos de vida normales de los organismos aún cuando

exista un disturbio ambiental sorpresivo, es decir mantienen el programa habitual del ciclo. Además ayudan a la orientación, lo cual cobra importancia en la migración de las aves, peces y reptiles, por detección del sol o luz polarizada (cuando el sol no es visible) (Folk, 1974).

La glándula pineal ha sido considerada como uno de los principales indicadores de la evolución de las especies (Ralph, 1975; Norman and Litwack, 1987). Filogenéticamente el órgano pineal de los vertebrados superiores corresponde al ojo intermedio de los vertebrados inferiores (Wurtman *et. al.*, 1968). Es decir, la pineal de los vertebrados superiores deriva del órgano fotorreceptor de los vertebrados inferiores (Collin, 1971) y está conectado a los ojos laterales por medio del núcleo supraquiasmático (NSQ) y del sistema nervioso simpático (Moore *et. al.*, 1967). En los peces, anfibios, y reptiles ésta es considerada principalmente como un órgano fotorreceptor (Ralph, 1975; Norman and Litwack, 1987), mientras que en especies más evolucionadas se considera como un órgano productor de hormonas, que recibe información lumínica vía ojos laterales y nervios simpáticos. La producción pineal de metoxindoles (en la cual se abundará más adelante en esta revisión) depende de la luz y oscuridad, por lo que se le ha conferido a estas sustancias el papel de regulación de la actividad reproductiva estacional en algunas especies. Sin embargo, existe gran diversidad de opiniones en cuanto a la primacía de estas diferentes sustancias en la acción fisiológica. La melatonina actualmente es considerada como la principal sustancia activa producida por la glándula pineal. La secreción de melatonina se genera durante los periodos de oscuridad. La luz, por el contrario, suprime la síntesis y secreción de esta hormona (Norman and Litwack, 1987).

Actualmente se afirma que los efectos de los mensajes pineales involucran, dependiendo de la especie, cambios de color de la piel, control endócrino de la reproducción, fototactismo y reacciones locomotoras, detección de luz polarizada y

fenómenos rítmicos. Es por ello, que la glándula pineal está considerada como un importante componente del sistema fotoneuroendócrino (Norman and Litwack, 1987).

Trabajos realizados por Seem y colaboradores (1980) en células pineales de cobayo, dilucidan la alta sensibilidad de éstas a cambios en el campo magnético. Esta situación es particularmente importante en las aves migratorias (Walcott, 1977), ya que en éstas el campo magnético es aparentemente detectado mediante los ojos laterales (Wurtman *et. al.*, 1968).

Por lo que respecta a los mamíferos (en especial las ovejas) aparentemente cambios en el campo eléctrico y magnético no ejercen ningún efecto sobre los patrones circadianos de secreción de melatonina o sobre los mecanismos involucrados en el inicio de la actividad reproductiva (Lee *et. al.*, 1993).

Los lagartos poseen un pequeño tercer ojo u ojo parietal, el cual se ubica en la superficie dorsal de la cabeza y forma parte del llamado "complejo pineal". Este se encuentra estructurado por córnea, cristalino y retina. Se ha demostrado que la retina parietal contiene células fotorreceptoras. Además, mediante electroretinogramas se ha podido evidenciar que el ojo parietal es funcional como órgano de la visión (Eakin, 1973). El ojo parietal del lagarto corresponde, en la rana, al órgano frontal (Norman and Litwack, 1987). Otras características importantes que se le atribuyen al ojo parietal son la tolerancia al calor y la termorregulación en ciertos animales (Gundy *et. al.*, 1975).

Quizá la inclusión del componente parietal fotorreceptor en el complejo pineal de los organismos facilita la sobrevivencia de éstos a altas latitudes al desencadenar, con gran precisión, el tiempo de inicio de la reproducción o la modulación de la temperatura, o ambas, permitiéndoles permanecer en gran variedad de habitats de temperatura. Tocante a esto, la sincronización estacional de la reproducción y la termorregulación son esenciales en especies poiquiloterms, tales como los lagartos, que viven en climas adversos y a altas latitudes (Ralph, 1975).

Por otra parte, en forma general se ha observado correlación entre el tamaño de los órganos del complejo pineal y la latitud a la que habitan las diferentes especies. Así, los vertebrados que habitan a altas latitudes, tales como los lagartos, pingüinos, pinípedos y cérvidos poseen órganos más prominentes que aquellos que viven a bajas latitudes, como los cocodrilos, rinocerontes y elefantes, que poseen órganos muy pequeños e incluso ausentes. También en forma general, pineales pequeñas suelen asociarse a especies con hábitos nocturnos, tales como las lechuzas, petreles, insectívoros, murciélagos, rinocerontes, etc. En contraste, pineales grandes suelen encontrarse en especies diurnas como los lagartos, muchas aves, conejos, caballos y bovinos. Además, el tamaño de la pineal guarda una correlación negativa directa con el grado de homeotermismo en los mamíferos. De tal forma, muchas especies poiquilotermas poseen pineales atróficas, tal es el caso de algunos insectívoros, algunos murciélagos y algunos roedores (Ralph, 1975).

Se considera que en algunas especies el aparato pineal puede servir como reloj biológico, controlando ritmos diurnos y jugando un papel importante en los ritmos estacionales de la reproducción. Incluso, se dice que la pineal tiene que ver de algún modo con la termorregulación, osmorregulación, cronometría diaria o eventos estacionales. Por todas estas observaciones, Ralph (1975) creó la hipótesis de que cuando en una especie animal la demanda de adaptación al medio es pequeña, el tamaño de la pineal es pequeño, e incluso ésta disminuye su tamaño proporcionalmente hasta tender incluso a desaparecer. Sin embargo, cuando una especie animal vive bajo condiciones críticas, la cronometría y alta tasa homeostática se reflejan en el mayor tamaño y complejidad de su aparato pineal.

### 3. LA GLÁNDULA PINEAL COMO TRANSDUCTOR DE LA LUZ.

#### 3.1. Descripción anatómica de la glándula pineal.

La glándula pineal (epífisis cerebral) es un pequeño órgano situado en la depresión media existente entre el tálamo y el colículo rostral del cerebro. Se encuentra en una posición media y dirigida dorsocaudalmente al lugar del tálamo, dorsal al colículo rostral y ventral a los hemisferios cerebrales (Figura 2). Esta glándula, durante la etapa embrionaria, aparece primero como una capa simple de células ependimales que se desarrollan como un brote del techo del diencefalo. A medida que progresa el desarrollo, el órgano toma la apariencia y estructura glandular con una disposición tubular de sus células. Estas células epiteliales no afectan al tejido nervioso. El mesénquima se invagina entre los túbulos y proporciona un septum de tejido conectivo. La glándula pineal se encuentra rodeada por una cápsula, formada por la piamadre. En la mayoría de las especies existen unas trabéculas de tejido conectivo areolar muy débil, que separan el órgano en lóbulos. La lobulación de la glándula pineal, en la vaca y el perro, no se distingue, ya que las trabéculas no son manifiestas. Células ependimales aparecen formando la cápsula del órgano en el lugar de unión al pedúnculo del tercer ventrículo. El tejido intersticial está fundamentalmente formado por células neurogliales. Sus procesos citoplasmáticos pueden estar enmascarados por fibras reticulares. El parénquima está formado por un tipo de células, llamadas principales (pinealocitos) que se caracterizan por tener un núcleo vesicular redondeado, un citoplasma ligero, acidófilo y homogéneo. El citoplasma de cada célula es ovoide, con proliferaciones similares a bulbos. Las células del parénquima se encuentran agrupadas constituyendo folículos, en especial en animales jóvenes. Se han observado fibras musculares estriadas aisladas en la pineal de novillas. El aporte sanguíneo lo recibe por la arteria cerebral profunda, rama de la craneal que comunica con la carótida interna. La arteria cerebral profunda termina en tres ramas que forman

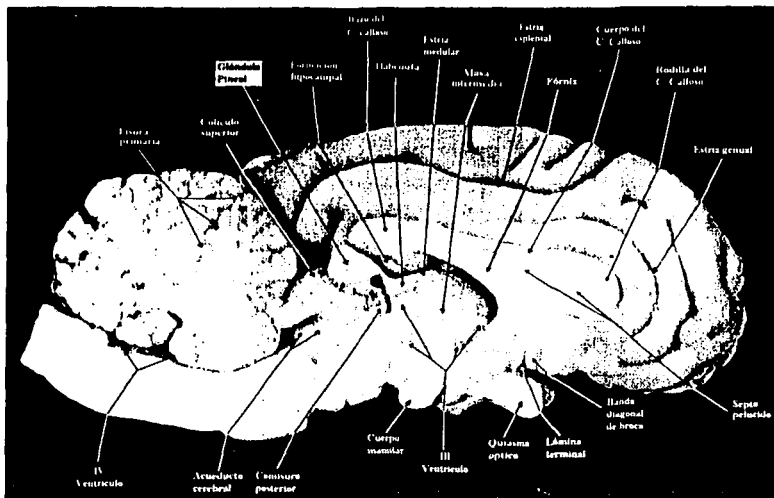


Figura 2. Corte sagital del cerebro ovino mostrando la ubicación de la glándula pineal con respecto a otras estructuras anatómicas (Tomado de Vanderwolf y Cooley, 1990).

la *rete pinealis*. La principal vena es el seno longitudinal ventral, que está estrechamente asociado con el pedúnculo y cuerpo del órgano. En el estroma, aparecen fibras no mielínicas, de origen simpático que llegan a la pineal junto con la arteria cerebral profunda. En los ovinos, la glándula pineal es ovoide y tiene un peso promedio de 80 a 100 mg en animales adultos (Sisson y Grossman, 1982; Vanderwolf and Cooley, 1990).

### 3.2. Estructura, biosíntesis y control de la secreción de melatonina.

La principal hormona secretada por los pinealocitos es la melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina). La serotonina (5-hidroxitriptamina) y la N-acetilserotonina (N-acetil-5-hidroxitriptamina) también son productos importantes en la pineal. La serotonina y la melatonina tienen un origen común, el triptofano. Todas estas sustancias poseen un anillo indólico en su estructura. Recientemente se han hallado dos neurofisinas en la pineal, las cuales son proteínas similares tanto a la vasopresina como a la oxitocina producidas en el hipotálamo (Norman and Litwack, 1987).

Después de que el triptofano es captado por los pinealocitos, es convertido en 5-hidroxitriptofano por acción de la enzima triptofano-hidroxilasa. Posteriormente, debido a la acción de la descarboxilasa de L-aminoácidos aromáticos sobre el 5-hidroxitriptofano, se origina la serotonina. La melatonina es sintetizada después a partir de la serotonina por la acción catalítica de dos enzimas: la N-acetiltransferasa (NAT), que convierte la serotonina a N-acetilserotonina; y la hidroxindol-O-metiltransferasa (HIOMT), que cataliza la transferencia de un grupo metilo a partir de S-adenosilmetionina (SAM) a el 5-hidroxil de la N-acetilserotonina (Norman and Litwack, 1987). Figura 3.

En la Figura 4, puede apreciarse un modelo que ilustra las bases neuroendócrinas de la reproducción estacional. En ésta se observa que el estímulo



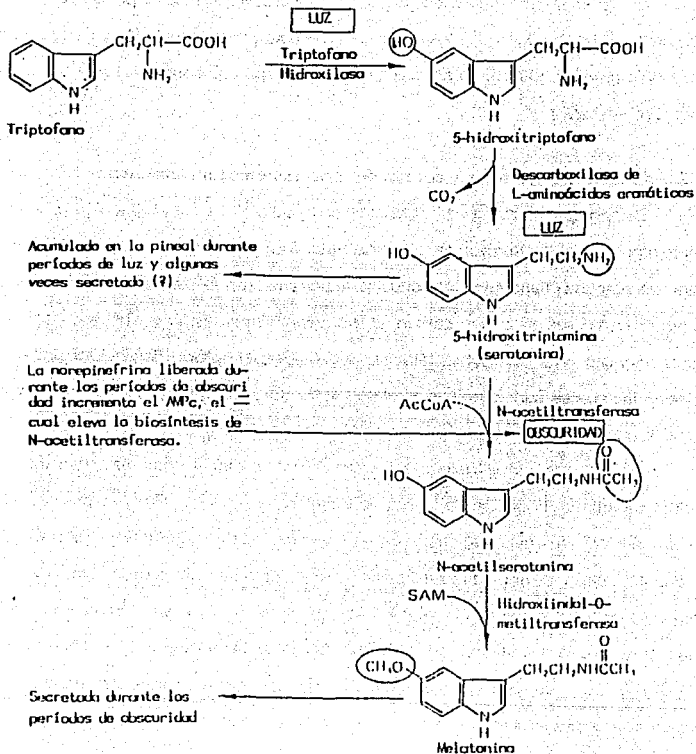
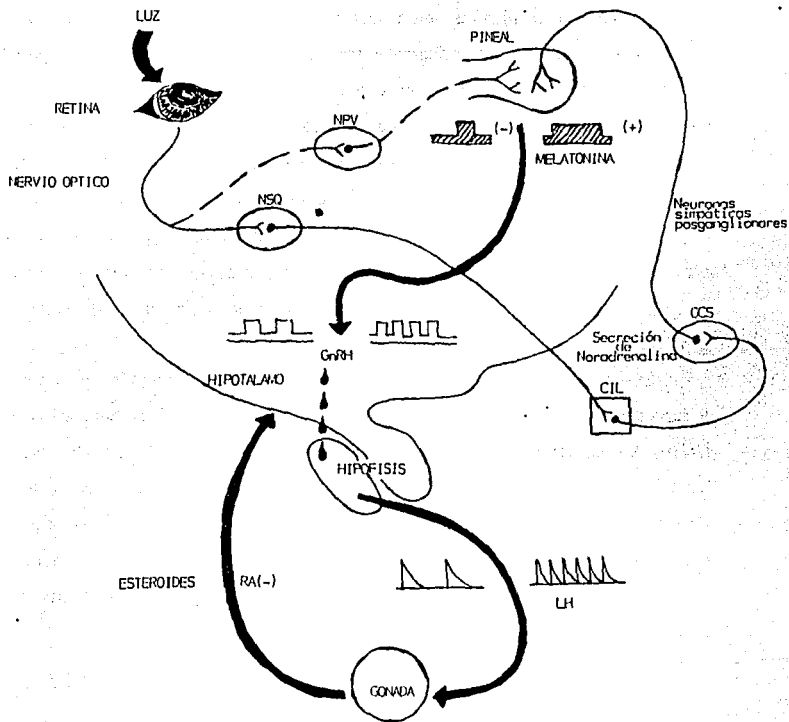


Figura 3. Síntesis de melatonina dentro de los pinealocitos (Tomado de Norman y Litwack, 1987).



**Figura 4. Bases neuroendócrinas de la reproducción estacional en la oveja (Adaptado de Karsh y col., 1984).**

**NSQ, núcleo supraquiasmático; NPV, núcleo paraventricular; GCS, ganglio cervical superior; CIL, columna intermediolateral; +, inductivo; -, inhibitorio; RA(-), retroalimentación negativa entre ovarios y pulsos generados de LH.**

luminico activa los fotorreceptores de la retina, transformándose en energía electroquímica, que es transmitida al NSQ del hipotálamo a través del tracto retinohipotalámico. Después de interactuar con los sistemas circádicos, la información fótica es retransmitida a la columna intermedio lateral (CIL) que inhibe al ganglio cervical superior (GCS). El GCS es una estructura simpática que inerva mediante terminaciones noradrenérgicas a la pineal, la cual traduce el mensaje neural a señales hormonales en forma de un ritmo circadiano de secreción de melatonina. La oscuridad promueve la secreción de noradrenalina por el GCS, la acción de esta en la pineal, origina mayor producción de AMPc, aumenta la incorporación de triptofano, induce activación catalítica de la NAT y de la HIOMT, y en consecuencia síntesis y liberación de melatonina. La luz suprime la secreción de noradrenalina, inhibiéndose la síntesis de la hormona (Lewy *et. al.*, 1980).

El esquema de estas señales de melatonina, que es interpretado como inductor o supresor según la especie, determina la frecuencia de los pulsos generadores de GnRH. La longitud del día entonces aumenta o disminuye la sensibilidad del hipotálamo a la retroalimentación negativa de estradiol, en la producción de pulsos de GnRH, alterándose la frecuencia de secreción de LH. Por lo tanto, los cambios resultantes en el patrón episódico de secreción de gonadotropinas, determina el que se pueda presentar el ciclo estral o no (Foster, 1983; Karsch *et. al.*, 1984; Norman and Litwack, 1987).

### **3.3. La acción bivalente de la melatonina en reproductores de días cortos y reproductores de días largos.**

El papel de la glándula pineal fue considerado durante muchos años como antigonadotrópico en varias especies. Estudios realizados por Reiter (1975), mostraban que en "hamsters" sometidos, a condiciones de laboratorio, a fotoperiodo corto se provocaba activación de la glándula pineal y, en consecuencia, regresión gonadal. Sin

embargo, en estudios recientes se ha demostrado el papel progonadotrópico de esta glándula y de su hormona en especies reproductoras de días cortos. De allí que esta hormona se este valorando para manipular la reproducción en varias especies animales domésticas y silvestres.

Para sincronizar sus periodos fértiles en las temporadas mas adecuadas del año, las especies estacionales dependen de diversos factores ambientales, los cuales les permiten anticiparse a la "estación de plenitud". De las muchas variables ambientales, el fotoperiodo es tal vez el más comúnmente usado agente sincronizador. Así, las especies que usan esta variable ambiental como agente sincronizador, pueden ser clasificados en dos grupos generales: 1) reproductores de días largos (caballos, hurones, algunos roedores); y 2) reproductores de días cortos (borregos, cabras, venados); dependiendo de si sus gónadas son activadas por un incremento o un decremento en la longitud del día, lo cual ocurre durante la primavera y el otoño, respectivamente (Hoffmann, 1981; Walker *et. al.*, 1983; Karsch *et. al.*, 1984). Legan y Winans (1981) han considerado al fotoperiodo un marcapaso ("Zeitgeber") que controla la estacionalidad reproductiva.

El "hamster" es una especie que se caracteriza por ser hibernante y vivir en regiones entre los 30 y 45° de latitud norte. Bajo fotoperiodo natural se presentan un periodo de infertilidad, seguido de un periodo de fertilidad. Mientras tanto, cuando se les somete en condiciones de laboratorio a mas de 12.5 horas luz/día estos se comportan como poliéstricos continuos. Sin embargo, en su hábitat natural son puramente estacionales, siendo reproductivamente incompetentes durante el periodo invernal de hibernación. Factores tales como la temperatura ambiental pueden secundariamente modificar su ciclo reproductivo. Con fines descriptivos el ciclo sexual anual de esta especie ha sido dividido en 4 fases diferentes: Fase de inhibición, fase de quietud sexual, fase de restauración y fase sexualmente activa. Durante la fase de

inhibición el decremento del fotoperiodo causa activación de la glándula pineal y, en consecuencia, regresión gonadal. La fase de quietud sexual requiere de una glándula pineal intacta para mantener a las gónadas en un estado no funcional. La fase de restauración, la cual ocurre en la primavera, permite a las gónadas revitalizarse. Esta fase del ciclo parece ser independiente de la luz. La fase sexualmente activa se extiende desde la primavera hasta su fin. Durante esta fase el eje hipotálamo-pituitaria-gónadas parece ser refractario a la inhibición por la glándula pineal. Algo de luz se requiere durante los meses de verano para interrumpir el periodo refractario (Reiter, 1975).

Por lo que respecta a la oveja, el mecanismo de transmisión del fotoperiodo involucra diferentes estructuras anatómicas: a) Fotorreceptores de la retina; b) Tracto retinohipotalámico; c) Núcleo supraquiasmático; d) Ganglio cervical superior; e) Glándula pineal; y f) Melatonina (Foster, 1988). El tipo de reproducción de las ovejas (poliéstrico estacional) dada su época reproductiva y duración de la gestación, permite un agrupamiento de los partos, naciendo las crías en una época en que las condiciones de sobrevivencia son más favorables. Lo anterior resulta una ventaja evolutiva en regiones en las cuales son muy drásticos los cambios climáticos y de nutrición (Terril, 1974; Derivaux, 1976; Lindsay, 1991).

En la oveja madura, la glándula pineal se ha propuesto como mediadora del fotoperiodo indicado a través de patrones de secreción de melatonina, en los que la elevación de indolaminas es proporcional a las horas de obscuridad. Esos ritmos circadianos de melatonina además sincronizan el ritmo circanual de la reproducción, producido por cambios estacionales en el fotoperiodo, al regular el desarrollo folicular vía pulsos de LH (Foster, 1988).

#### 4. MECANISMOS NEUROENDÓCRINOS RESPONSABLES DE LA ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA DE LAS OVEJAS.

En el capítulo anterior se hizo referencia a que a los miembros de la especie ovina son reproductores de días cortos, debido a que su estación reproductiva comienza cuando se acortan los días. En el hemisferio norte, la estación reproductiva de las ovejas comienza en septiembre, y de no existir gestación, se continúa a lo largo del invierno; mientras tanto, en el hemisferio sur, las fechas se encuentran corridas seis meses dada la inversión de las estaciones. Sin embargo, las ovejas trasladadas de un hemisferio a otro aparentemente se adaptan rápidamente al cambio de estación. Razas como la Romney Marsh y la Hampshire que habitan en regiones ecuatoriales (en las cuales las variaciones en el fotoperiodo no son muy notorias), pueden parir todos los meses del año, aunque cabe señalar que la mayor cantidad de partos se presenta en los meses de abril y octubre; dicha actividad puede relacionarse con la temperatura ambiente o la presencia de lluvias, y en general, con factores nutricionales, climáticos, raciales, etcétera. Por otra parte, la estación reproductiva puede ser más corta o presentarse más tarde en ovejas que viven en latitudes cercanas a los polos. Mientras tanto, en regiones tropicales y subtropicales las ovejas tienden a presentar comportamiento reproductivo a través de todo el año. En conclusión, a altas latitudes es muy notoria la relación existente entre el fotoperiodo y el inicio y extensión de la actividad sexual de las ovejas, mientras que a latitudes bajas esta relación es menos pronunciada (Hafez, 1952; Terril, 1974; Derivaux, 1976; Lindsay, 1991)

Los estudios sobre la pineal desde épocas remotas siempre fueron muy a la par con los de el sistema nervioso central (SNC), dada su íntima relación anatómica. Resulta interesante pensar como al mismo tiempo que éstos se llevaban a cabo, se estaba tratando de dilucidar por qué las ovejas eran reproductivamente estacionales.

Por ello, a continuación se hará una breve descripción de los primeros estudios que se hicieron sobre esta glándula y como fue que se le asoció con la reproducción de los animales.

La pineal, durante muchos años fue considerada dentro de un marco de misticismo o con un enfoque sobrenatural. Un ejemplo claro de ello es que en la India, dentro de los Vedas o "libros de conocimiento consagrado", se le relaciona con algunos de los siete chakras o centros de energía vital situados en el eje central del cuerpo. El chakra supremo o "corona" (sahasrara chakra ) que se localiza en el ápice de la cabeza, teóricamente se encuentra relacionado a la glándula pineal; se encuentra representado por una flor de mil pétalos; se asocia a silencio absoluto, a diferencia de otros chakras, los cuales se asocian a sonidos específicos. El ajna chakra, localizado en la parte anterior de la cabeza, entre las cejas, ha sido asociado con la glándula pineal y la glándula pituitaria; es el tercer ojo del Dios Shiva y está representado por una joya. (Reiter and Vaughan, 1988).

En el siglo III A.C. Herophilus, padre de la anatomía científica, ubicó a la pineal dentro de los ventrículos cerebrales y le atribuyó una función esfintérica, reguladora del flujo del "espíritu animal" entre los ventrículos cerebrales y los supuestos nervios huecos. Si esto es traducido al conocimiento actual se puede decir que Herophilus fue el que sentó las bases para pensar en la circulación del líquido cerebroespinal en el sistema ventricular cerebral. Cuatrocientos cincuenta años más tarde Galeno afirmó que la pineal no podía ser una válvula, dado que se localizaba sobre la superficie exterior del cerebro y además no poseía movimiento. Incluso notó que su estructura era diferente a la del cerebro. Las múltiples ramas de irrigación sanguínea y su similitud macroscópica tisular a los nódulos linfoides lo hicieron pensar que ésta realizaba una función glandular. Galeno le dio a este órgano el nombre de "cuerpo pineal", dada su similitud a un cono en forma de pino. Sin embargo, aún Galeno consideró al cerebro

como la "silla del alma" (Reiter and Vaughan, 1988).

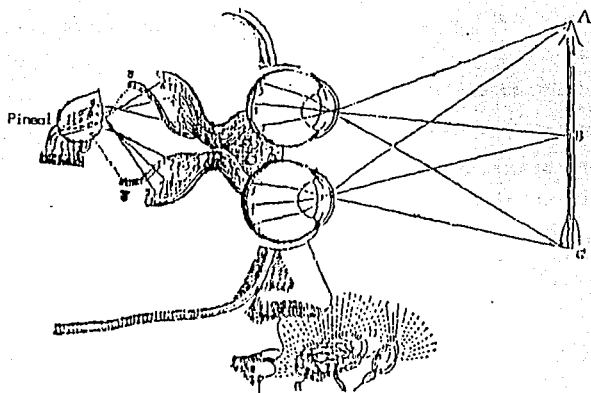
A mediados del siglo XVII Descartes retomó en parte la idea de Galeno, considerando a la pineal como la silla del alma, ya que consideraba al alma como un algo separado del cuerpo y que era en la pineal donde ésta podría residir. Descartes volvió a ubicar erróneamente a la pineal dentro del tercer ventrículo (igual que Herophilus) y no afuera como afirmara Galeno. Algo interesante dentro de los estudios de Descartes es que de alguna forma se percató de la conexión existente entre la pineal y el sistema visual de los mamíferos, es decir ligaba a los ojos con la pineal por medio de los nervios y quiasma óptico. El ejemplo más claro de ello es uno de varios dibujos de sus libros (Reiter and Vaughan, 1988). Figura 5.

Las ideas de Descartes dominaron durante los 250 años siguientes, y fue hasta los años 1800 a 1900 cuando se originó un periodo de investigación científica del cerebro y el SNC en general (Reiter and Vaughan, 1988).

Particularmente el comienzo de los estudios formales sobre la anatomía macroscópica, vascularización, inervación, histología y embriología de la pineal en mamíferos fue en el siglo XIX y estuvo a cargo de Ahlborn, De Graaf y otros investigadores, notando su similitud al "tercer ojo" u órgano epifisiario fotosensorial de los vertebrados inferiores (Reiter and Vaughan, 1988).

Ya en el siglo XX, se comenzaron a realizar estudios sobre el papel biológico de la pineal por medio de extirpación glandular y administración de extractos glandulares. Quizá lo más significativo de esta época fue un reporte de Heubner sobre un caso de pubertad precoz en un niño con un pinealoma. Este hecho originó la teoría de Marburg, acerca de que la pineal regulaba el inicio de la pubertad. A su vez esto





**Figura 5. Relación entre los ojos y la glándula pineal de los mamíferos teorizada por Descartes a mediados del siglo XVII (Tomado de Reiter y Vaughan, 1988).**

desencadenó la aparición de diversas investigaciones inherentes a la interacción de la pineal con la reproducción (Reiter and Vaughan, 1988) y de los cuales son ejemplo todos los trabajos que se citarán a lo largo de esta revisión.

En 1943 Bargmann propuso que la función endócrina de la pineal era regulada por la luz, vía el SNC. Esto llevó a Wurtman y Axelrod (1966) a hacer estudios de transducción neuroendócrina. El aislamiento e identificación estructural de la melatonina, principal producto de secreción de la pineal, fueron realizadas a partir del año 1955 (Reiter and Vaughan, 1988).

Respecto a todos los estudios tendientes a esclarecer los mecanismos neuroendócrinos responsables de la reproducción estacional en ovinos, a continuación se hará una breve descripción cronológica de algunos de los trabajos mas importantes que se han realizado.

#### **4.1. Hallazgos por transferencia interhemisférica y/o manipulación del fotoperiodo.**

El conocimiento actual del tipo de reproducción en las ovejas, es producto de una serie de observaciones de diversos investigadores desde alrededor de la década de los cuarenta.

Marshal (1937) fue el primero en proponer que el factor de mayor importancia que influye sobre la presentación o no de actividad reproductiva en la oveja es la variación en el fotoperiodo\*, ya que logró apreciar los efectos del transporte interhemisférico sobre la actividad reproductiva en un grupo de ovejas Southdown las cuales fueron exportadas de Inglaterra a Sudafrica. Dichos animales parieron a su llegada a Sudafrica en el mes de enero de 1933, quedando nuevamente gestantes en mayo del mismo año. De esta forma, avanzaron subsecuentemente su estación

\*Ver apéndice 1.

reproductiva para el año 1934, quedando finalmente preñadas en marzo de 1935, lo cual fue totalmente al contrario de su anterior mes de cría en octubre, en Inglaterra, pero totalmente ajustado a su nuevo fotoperiodo.

Más tarde, la confirmación experimental de la modificación en la estación reproductiva producida por una completa alteración del fotoperiodo, estuvo a cargo de Yeates (1949), quien utilizó ovejas Suffolk en Cambridge, Inglaterra, repitiendo ésta experiencia en Brisbane, Australia, con ovejas Merino. De ese modo, estableció que el primer factor que controla la estacionalidad natural de la actividad reproductiva en ovejas es la longitud del día. Así, un incremento en la longitud del día causa el cese de actividad reproductiva, mientras que un decremento en la longitud del día provoca el efecto contrario. Más específicamente, un gradual decremento en la longitud del día, ocurre, en el hemisferio norte, después del día más largo del año (22 de junio) y éste es el principal factor que controla el inicio de la actividad sexual en las ovejas; por otra parte, un gradual incremento en la longitud del día, ocurre después del día más corto del año (22 de diciembre en el hemisferio norte), y éste es el principal factor que controla el cese de actividad sexual en tal especie.

Hafez (1952), basado en los resultados obtenidos por Yeates (1949) afirmó que se podía lograr un adelanto en la estación reproductiva en las ovejas al imponerles un fotoperiodo con días cortos, cuando los días en realidad se estaban alargando, esto es sometiendo a estos animales a fotoperiodo artificial. Así mismo, reportó que "ovejas Border Leicester que fueron transferidas de Escocia a Islandia, mostraron un retraso gradual en el inicio de su estación reproductiva, para coincidir finalmente con la de las ovejas nativas de Islandia".

Los trabajos de Yeates (1949; 1955) y de Hafez (1952), ya mencionados en líneas anteriores, despertaron la inquietud de muchos más investigadores para dilucidar el papel del fotoperiodo en la estacionalidad de la oveja. Entre ellos, Radford

(1961a y b), quien se inclinaba a pensar que el inicio del anestro no necesariamente era dictado por la luz ambiental, sino que podía ser el resultado de otras causas tales como el "agotamiento" o la supresión temporal de la actividad de la pituitaria anterior y que la consecuente supresión de la secreción de gonadotrofinas podía ocurrir como resultado de la variación estacional en la producción de otras hormonas. Esto porque al someter a ovejas Merino a condiciones de luz equinoccial (12 horas luz: 12 horas oscuridad) de forma artificial, ya sea durante el otoño o antes de la primavera, observó una respuesta muy variable en la actividad sexual de los animales durante dos años consecutivos, es decir en algunos se presentó actividad estral continua, mientras que en otros hubo anestro, aún cuando las condiciones artificiales de horas luz diarias no variaron en ningún momento. Incluso, con base en estos resultados, sugirió que el papel del fotoperiodo en la actividad sexual requería ser clarificado.

En 1956, Yeates publicó otro trabajo el cual fue una evidencia más de que la estación reproductiva natural de las ovejas Merino era regulada por fluctuaciones estacionales en la longitud de los días.

Hasta ese momento, al menos ya se tenía conocimiento de que la actividad reproductiva en los ovinos se encontraba estrechamente influenciada por el fotoperiodo. La manipulación artificial de tal factor ambiental fue hecho en estudios subsecuentes por varios investigadores, en especial Williams (1967) y Wiggan (1967) trataron de esclarecer si las ovejas preñadas eran sensibles a cambios en el fotoperiodo. Para ello expusieron a los animales a un decremento en la longitud del día durante el último tercio de gestación, continuando hasta el postparto, lo cual indujo actividad sexual durante el periodo normal de anestro. Sin embargo, no supieron con certeza a qué atribuirle el que se haya desencadenado la actividad, es decir, no supieron si realmente las ovejas preñadas eran o no fotosensibles. Esta teoría los llevó a pensar que quizá se podía manipular el fotoperiodo en este tipo de animales con la

atribuir la actividad estral estacional en las ovejas a estos ritmos endócrinos.

Más tarde Williams y Jackson (1971) quisieron saber cuál era el efecto a corto plazo de la transferencia simulada de ovejas hacia altas latitudes. Para ello trabajaron con un fotoperiodo local a los 51° 43' de latitud norte y utilizaron otro fotoperiodo simulado para los 70° de latitud norte, realizando el experimento cerca del solsticio de verano (8 de junio). De este modo, las ovejas que se encontraban en el fotoperiodo simulado de 70° N presentaron su estación de apareamiento más tempranamente que aquéllas mantenidas en el fotoperiodo local, por lo que concluyeron que la transferencia de una latitud a otra no tiene efecto supresor sobre el inicio de la estación reproductiva subsecuente y con la función reproductiva normal de los animales transferidos.

Otro aspecto que inquietó a los investigadores fue si la actividad reproductiva producto de diferentes fotoperiodos, tenía una respuesta dependiente de la raza. Los trabajos más recientes respecto a la estacionalidad reproductiva de las ovejas han sido conducidos tomando como base el fotoperiodo ecuatorial. Tal es el caso del trabajo de Beaty y Williams (1971 a y b), en el que compararon el comportamiento reproductivo de las ovejas de razas montañosas (Welsh Mountain, Scottish Blackface y North Country Cheviot) y razas de tierras bajas (Romney Marsh, Dorset Horn, Hampshire Down y Border Leicester) bajo condiciones ecuatoriales. En ambos tipos de razas observaron actividad reproductiva a todo lo largo del año, siendo ésta más notable cuando los animales ya se habían "acostumbrado" a la latitud ecuatorial, es decir al año siguiente de su llegada al lugar del experimento. Respecto a las razas de montaña, la Welsh Mountain presentó mayor actividad que la Scottish Blackface y ésta a su vez mayor que la Cheviot. Mientras tanto en las razas de tierras bajas la actividad fue muy similar entre sí, exceptuando a la Border Leicester en la cual fue consistentemente baja.

Williams (1974), comparó el comportamiento de dos razas británicas (Welsh

Mountain y Border Leicester) en dos fotoperíodos diferentes (1.- Correspondiente a los 51° 43'; 2.- Fotoperíodo ecuatorial simulado de 13 horas luz y 11 de obscuridad), no encontrando diferencias en el inicio de la estación reproductiva entre las dos razas con respecto al fotoperíodo 1. Sin embargo, las ovejas Border Leicester presentaron una estación reproductiva más corta que las Welsh Mountain. Respecto al fotoperíodo 2 todas las ovejas Welsh Mountain exhibieron estro, comparadas con solo el 38 % de las Border Leicester. Tales resultados llevaron a Williams a pensar que existía una diferente respuesta entre razas a estos fotoperíodos.

Los efectos centrales del fotoperíodo han sido el objetivo de interés para muchos autores que han sido citados a lo largo de este escrito. En particular, las múltiples investigaciones hechas por Lincoln y entre las cuales se encuentra una realizada en 1980 con carneros intactos o castrados, recibiendo estos últimos implantes de testosterona, lo llevaron a concluir que el fotoperíodo actúa dentro del cerebro, dictando los cambios cíclicos en la reproducción, pero que la testosterona se requiere de manera primordial para la completa expresión de los efectos reproductivos. Así mismo, agrega que en el ciclo sexual normal, el fotoperíodo afecta tanto la secreción de testosterona como la respuesta a la testosterona, resultando esto en un pico de sexualidad durante el otoño.

Pijoan y Williams (1983), por su parte estudiaron el efecto del fotoperíodo (fotoperíodo local a 51° 43' de latitud norte y fotoperíodo ecuatorial artificial) en la estación reproductiva de ovejas Dorset Horn y North Country Cheviot. Ellos encontraron que las ovejas Cheviot tuvieron un anestro estacional bien definido en ambos fotoperíodos, abarcando la estación reproductiva en el fotoperíodo local de fines de septiembre a febrero; mientras que en el fotoperíodo ecuatorial se inició y terminó antes. En tanto, las ovejas Dorset mostraron actividad estral y ovárica reducida durante los meses de mayo, junio y julio en el fotoperíodo local; en el fotoperíodo ecuatorial, en

forma similar, hubo una disminución muy marcada en la actividad reproductiva, de mediados de marzo a mediados de mayo. Sin embargo en ésta raza no observaron ningún periodo en el cual no hubiera alguna hembra en celo.

Trabajos realizados en México sobre estacionalidad reproductiva de ovejas incluyen el de De Lucas y colaboradores (1983), que detectó la marcada estacionalidad de las razas Corriedale, Suffolk y Romney. Estas razas no presentaron estro de marzo a junio. En contraste, en la Rambouillet y la Criolla la actividad se presentó durante todo el año, aunque la actividad más notable se dió en el otoño y principios de invierno.

Estudios como el de Webster y Barrel (1985) son una muestra de que los efectos del fotoperiodo son mediados por la melatonina, ya que al exponer ciervos hembra a fotoperiodo corto o administración de melatonina, observaron niveles reducidos de prolactina por ambos tratamientos, así como el adelanto de aproximadamente un mes en el día de monta, comparados con el grupo control.

Los trabajos de Beaty y Williams (1971 a y b); Pijoan y Williams (1983); y de De Lucas y colaboradores (1983) quizá apoyan, en parte la teoría de Brown (1962) de que al eliminarse la variación en el fotoperiodo, como sucede en un ambiente de tipo ecuatorial, otros factores ambientales tales como la temperatura, nutrición, presencia del macho y aún ciertos elementos geofísicos tales como la presión atmosférica, campo electromagnético y radiaciones cósmicas podrían controlar la estacionalidad reproductiva de las ovejas. Sin embargo, se puede considerar que actualmente están vigentes la teoría anteriormente mencionada y la de Hafez (1952) de que la persistencia de la "estacionalidad" reproductiva de las ovejas puede ser el reflejo de la persistencia de un ritmo interno (reloj biológico), que pudiera ejercer una influencia muy marcada cuando las condiciones ambientales no son favorables (Hafez, 1952).

Al respecto, Jackson y colaboradores (1990) demostraron que aún en ovejas sometidas a fotoperiodo ecuatorial, se presentan ritmos circanales de actividad

reproductiva, pero tales ritmos no coinciden en tiempos con los presentados por animales expuestos a fotoperiodo natural.

## **4.2. Hallazgos por medición de hormonas reproductivas.**

Al paso de los años, la determinación de los perfiles temporales de diferentes hormonas en la sangre de los borregos fue realizada por diversos investigadores en afán de estudiar a profundidad la endocrinología involucrada en la estacionalidad sexual, combinando tratamientos fotoperiódicos con la cuantificación sanguínea de tales sustancias.

4.2.1. Gonadotropinas, prolactina y esteroides. Lincoln (1976) estudio el efecto de dos diferentes fotoperiodos (16/8 y 8/16, luz/obscuridad) sobre la secreción de LH en carneros, encontrando que los días cortos "encienden" el control hipotalámico de liberación de LH, mientras que los días largos tienen el efecto contrario. Sin embargo, aclaró que el alcance de niveles máximos de secreción de LH resultado de los días cortos tomó varias semanas. Además el crecimiento testicular en tales circunstancias permaneció durante mucho tiempo estable. Estos resultados llevaron a Lincoln a pensar que estas respuestas tan lentas reflejan que se requiere de un periodo muy largo para el completo desarrollo del sistema hipófisis-testículo después de su activación.

Al año siguiente (1977), Lincoln y colaboradores realizaron un trabajo similar al anterior, sometiendo a carneros a los mismos fotoperiodos en forma alternada por un periodo de 36 semanas, pero con la finalidad de detectar cambios circadianos en la liberación episódica de FSH, LH y testosterona. Sus resultados mostraron que durante los días largos los niveles plasmáticos de gonadotropinas permanecieron muy bajos y los testículos de los animales regresaron a aproximadamente el 20% de su tamaño



máximo. A esto se agregó un reducido nivel de testosterona. Cuando los animales fueron reintegrados a días cortos su desarrollo reproductivo se reversionó, estimulándose después de 2 a 3 semanas, con un incremento progresivo en los niveles de FSH y LH plasmáticos y una consecuente hipertrofia testicular, alcanzándose una actividad testicular máxima a las 16 semanas. Por otra parte, observaron ritmos circadianos (24 horas) en los niveles plasmáticos de FSH, LH y testosterona, que se relacionaron con un incremento en la liberación de las gonadotropinas durante la fase de obscuridad. Los cambios circádicos, dijeron, aparentemente se correlacionaron con la actividad cíclica de los animales, dictada por la longitud de los días. De tal forma, propusieron una posible interrelación entre los ciclos circadianos y estacionales.

La posible relación existente entre el comportamiento sexual y agresivo, la actividad hipofisiaria y testicular durante la actividad sexual estacional y la influencia del fotoperiodo, fueron estudiadas por Lincoln y Davidson (1977). Para ello, expusieron carneros a los dos fotoperiodos citados en sus trabajos anteriores. De esa forma, encontraron que durante los días largos los carneros mostraron quietud reproductiva. Posteriormente, el cambio abrupto de días largos a cortos indujo una sucesión específica de respuestas en los sistemas reproductivos. Los niveles plasmáticos de LH y FSH comenzaron a incrementarse después de 2 a 4 semanas, seguidos inmediatamente por al menos una elevación en los niveles de testosterona, acompañándose de crecimiento testicular. La actividad testicular continuó alta durante los días cortos, y la mayor elevación en los niveles de andrógenos que se dió después de 5 a 10 semanas causó cambios en diferentes órganos periféricos: crecimiento de epidídimos, desarrollo de rubor en la piel inguinal y alta sensibilidad genital. Asimismo, altas concentraciones de testosterona se asociaron a comportamiento agresivo (percusiones hechas por el carnero en el corral) y sexual (incidencia del signo de Fiehlen). Por último, el cambio de los carneros a días largos, ocasionó los efectos

contrarios. Así, concluyen que existe una relación estrecha entre el estado endócrino y el comportamiento de los machos.

En 1980, un estudio en hembras fue conducido por Walton y colaboradores con la finalidad de definir si existían cambios a corto plazo en las concentraciones plasmáticas de FSH, LH y prolactina en ovejas durante el anestro y durante la etapa de transición anestro-actividad reproductiva, cuando estas eran sometidas a fotoperiodo corto (8hL:16hO). El experimento arrojó los siguientes resultados: Las concentraciones de FSH durante la mitad del anestro no mostraron variación durante el día, no existiendo efecto de días cortos o algún cambio que se pudiera asociar con el inicio de la ovulación. En todas las ovejas se observó liberación pulsátil de LH en todos los momentos del muestreo sanguíneo. Durante la mitad del anestro, la ocurrencia de pulsos de LH varió entre 1 y 3 por día, y uno de los pulsos aparentemente estuvo sincronizado con el amanecer. La exposición a días cortos no afectó la frecuencia de liberación de LH. Tanto en las ovejas en periodo de anestro como en aquellas en periodo de transición anestro-actividad reproductiva, se incrementó la frecuencia de pulsos de LH de 12 a 14 días antes de la primera ovulación, lo que se asoció a un decremento de la amplitud de cada pulso. Las concentraciones de prolactina fueron altas durante el anestro y tendieron a ser más altas durante las horas de oscuridad y las primeras horas de la mañana. La exposición a días cortos durante 3 semanas eliminó los cambios diurnos de secreción de prolactina y redujo las concentraciones a niveles no detectables. Por lo anterior concluyen que la exposición a días cortos aparentemente no incrementa la liberación de FSH y LH al menos en el corto plazo, aunque esto no excluye la posibilidad de que la longitud del día controle la liberación de gonadotropinas. La disminución en las concentraciones de prolactina producidas por la exposición a días cortos no fueron seguidas por un inmediato retorno a la ovulación, lo cual reafirma que la prolactina no es el único factor que restringe la actividad ovárica

en ovejas.

Lindsay y colaboradores (1984) tuvieron la inquietud de esclarecer la relativa influencia entre los cambios en la longitud del día y las diferencias en la nutrición sobre el tamaño testicular y la producción de LH en carneros. Sus hipótesis a probar fueron: 1) Los pulsos de LH se encuentran cuantitativamente relacionados a la tasa de cambio en la longitud del día; y 2) La nutrición puede modificar la respuesta a esta tasa de cambio. Para ello, expusieron a diferentes grupos de animales a fotoperiodo de invierno o verano (8 y 16 horas luz, respectivamente) durante 6 meses, y les administraron una dieta suplementada ya sea con un 50 ó 25% más de los requerimientos de proteína para mantenimiento. Sus resultados fueron: El diámetro y volúmen testicular se incrementó con días cortos y decreció con días largos, pero la dieta no tuvo efecto sobre estos parámetros. Por otra parte, la frecuencia de pulsos de LH fue alta (3/12 horas por animal) en días cortos y baja (1/12 horas por animal) en días largos. La dieta tuvo efecto sobre la cantidad total de pulsos de LH. Así, carneros que consumieron la dieta "alta en proteína" tuvieron un total de 175 pulsos de LH, mientras que los que ingirieron la dieta "baja en proteína" tuvieron 131 pulsos ( $P < 0.05$ ). De tal modo, las conclusiones de los autores fueron: 1) el decremento en la longitud del día estimula la pulsatilidad de LH y el crecimiento testicular, mientras que el incremento en la longitud del día tiene un efecto inhibitorio; y 2) La pulsatilidad de LH aparentemente es influenciada por el nivel de proteína en la dieta.

4.2.2. Melatonina. Rollag y Niswender (1976), realizaron un estudio tendiente a descubrir las posibles diferencias en los niveles de melatonina entre ovejas expuestas a diferentes fotoperiodos (luz continua, obscuridad continua y ecuatorial). Así, encontraron que en las ovejas expuestas a fotoperiodo ecuatorial, se presentó un ritmo circádico en las concentraciones de melatonina (10-30 pg/ml en los periodos de

luz y 100-300 pg/ml en los periodos de obscuridad). La exposición a luz continua, provocó la abolición del ritmo circadiano, manteniéndose las concentraciones de esta hormona de 10-50 pg/ml. Las ovejas sometidas a obscuridad continua, en tanto, mostraron persistencia del ritmo circadiano. Con ello, concluyen que la persistencia del ritmo de secreción de melatonina en fotoperiodo ecuatorial y en obscuridad continua se encuentra asociada al incremento en la actividad de las enzimas hidroxindol-O-metiltransferasa y N-acetil transferasa durante los periodos de obscuridad, lo cual no ocurre en el caso de la exposición a luz continua.

En 1982, Almeida y Lincoln mencionaron que existían dos hipótesis sobre como los organismos responden a cambios en la longitud del día. En una, se propone que la respuesta depende del número absoluto de horas de luz u obscuridad en un periodo de 24 horas. En la otra, se dice que la respuesta depende de como el fotoperiodo diario influye ritmos circadianos generados endógenamente por el animal. Con la finalidad de probar tales hipótesis, realizaron un trabajo en carneros, los cuales fueron mantenidos en días largos (16hL:8hO) durante 16 semanas y posteriormente sometidos a tres regimenes de luz (8/40, 8/28 y 8/16 horas luz/obscuridad). Una parte de los machos se mantuvieron en días largos. Obtuvieron los siguientes resultados: Durante el periodo inicial de 16 hL:8hO, los testiculos de todos los carneros mostraron regresión en su tamaño y desapareció el rubor dérmico sexual. La manutención en este fotoperiodo por más de 16 semanas provocó crecimiento testicular espontáneo y reaparición de rubor dérmico sexual después de 2 semanas. Los animales mantenidos en los fotoperiodos 8/40 y 8/16 después de 16 semanas mostraron una significativa aceleración en el desarrollo testicular y rubor dérmico. Mientras tanto, los animales que estuvieron bajo el fotoperiodo 8/28 fallaron en mostrar esta respuesta estimulatoria y su reactivación testicular se presentó al mismo tiempo que en los animales del fotoperiodo prolongado 16/8. Por otra parte observaron ritmos claramente circadianos en los niveles de

melatonina en los animales mantenidos en el fotoperiodo 8/40. Los picos de secreción de melatonina ocurrieron justo antes del inicio del periodo de luz en animales en fotoperiodo 8/40, en comparación con los animales en fotoperiodo 16/8. Bajo el régimen 8/28 hubo un incremento en los niveles promedio de melatonina en comparación a los niveles observados en animales bajo el régimen 8/40, sin embargo no hubo ritmicidad diaria consistente en tales niveles. La exposición a estos dos fotoperiodos también provocó diferencias en los perfiles de prolactina. Estos resultados, llevaron a los autores a concluir que el diseño de un modelo fotoperiódico de reproducción en ovinos, debe involucrar el control de los ritmos circadianos en la secreción hormonal, considerando especialmente importante la secreción de melatonina.

Almeida y Lincoln (1984), mencionaron que existen dos posibles mecanismos que involucran a la melatonina para responder a cambios a largo plazo en la actividad reproductiva observada bajo condiciones constantes de fotoperiodo: 1) los patrones de elevación de melatonina pueden cambiar; y 2) la respuesta del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas varía por la exposición a fotoperiodos no cambiantes. Para probar la existencia del primer mecanismo, sometieron dos grupos de carneros, a días largos (16hL:8hO) o cortos (8hL:16hO), por un periodo de 94 semanas. La manutención por más de 16 semanas en uno u otro fotoperiodo provocó cambios espontáneos en la actividad gonadal y en la secreción de prolactina, aunque esto no estuvo correlacionado con el fotoperiodo prevalente. La fotorefractoriedad se caracterizó por cambios cíclicos en la función testicular, los cuales fueron independientes de la longitud del día. El periodo en el cual se presentaron tales cambios fue similar en ambos tratamientos (días largos:  $40.9 \pm 1.5$  semanas; días cortos:  $38.1 \pm 0.33$  semanas). Las tasas de cambio en la función testicular y la secreción de prolactina fueron más bajas durante el estado refractario que durante el estado fotosensitivo. Al

pensar que la información fotoperiodica parece estar relacionada con sistemas endócrinos a través de esquemas diarios de secreción de melatonina por la pineal, los autores midieron las concentraciones de melatonina tanto durante el periodo de sensibilidad como durante el periodo de refractoriedad. Así, en las primeras 21 semanas de permanencia en uno u otro fotoperiodo, los carneros mostraron esquemas sincronizados diarios en los niveles de esta hormona, con niveles elevados que ocurrieron durante las horas de obscuridad. Similares ritmos de secreción se observaron en los carneros que fueron cambiados de fotoperiodo después de 94 semanas de permanecer en uno u otro. Entre las semanas 21 y 94 no ocurrieron ritmos diarios de melatonina de manera consistente en todos los animales, no estando confinados a las horas de obscuridad del día los picos de secreción de melatonina. Sin embargo, dicen, estos resultados indican, al menos en parte la existencia de ritmos circadianos de secreción de melatonina. Los autores sugieren que la pérdida de coordinación entre la secreción de melatonina y el ciclo de luz-obscuridad se puede deber a que durante la refractoriedad el control circadiano de secreción de melatonina es interrumpido. Así mismo, dicen que la pérdida de sincronía entre la actividad reproductiva, la secreción de prolactina y la longitud del día durante la refractoriedad, se puede deber a interrupción del esquema de secreción de melatonina, lo cual no es precisamente reflejo del fotoperiodo.

Como se ha venido mencionado en trabajos anteriores, la melatonina actualmente se considera como un producto pineal responsable de la mediación de la respuesta reproductiva de los ovinos a diferentes fotoperiodos, siendo responsable además del control de la sensibilidad del hipotálamo a retroalimentación negativa de estradiol, y la consecuente secreción de LH por la hipófisis. Con este conocimiento Bittman y Karsch (1984) realizaron un trabajo tendiente a establecer si la duración de la secreción nocturna de melatonina determina la respuesta de la oveja a longitudes

inhibitorias del día (días largos). Este trabajo logró confirmar la hipótesis de los autores. Además, con base en éste sugirieron que la pineal más que un pro o anti gonadal, es un participante activo en la medición de la longitud del día.

Con la finalidad de probar la hipótesis de que la refractoriedad reproductiva de la oveja a un fotoperiodo inductivo no es causada por una inapropiada secreción de melatonina, Malpaux y colaboradores (1987) trabajaron con ovejas expuestas prolongadamente a un fotoperiodo inductivo, midiendo los niveles circadianos de melatonina. Su trabajo no arrojó evidencia de eliminación en el patrón secretorio de melatonina en ningún momento. La duración y la fase de elevación relativa de melatonina al ciclo luz/obscuridad no varió con el tiempo de exposición a días cortos. Tales resultados confirmaron la teoría de los autores. Al año siguiente (1988b) Malpaux y colaboradores realizaron un trabajo similar, señalando después de obtener sus resultados que el patrón característico de secreción de melatonina (bajo durante el día y alto durante la noche), la duración de la elevación de melatonina y la relativa fase del ciclo de luz/obscuridad, no cambian cuando la oveja entra en estado refractario a una longitud del día inhibitoria. Ello, dicen, comprueba la hipótesis de que la refractoriedad de la oveja a longitudes del día inhibitorias no es el resultado de una alteración en el ritmo circadiano de secreción de melatonina. Wayne y colaboradores (1988) en tanto, afirmaron que la duración de la secreción nocturna de melatonina en ovejas se encuentra codificada por la longitud del día.

La importancia de un fotoperiodo cambiante y el patrón secretorio de melatonina en la determinación del largo de la estación reproductiva en ovejas fue estudiada por Malpaux y colaboradores (1988a). En este estudio concluyen que la refractoriedad a un fotoperiodo inductivo puede ser temporalmente superada por exposición a días cortos. Por otra parte, el cambio en la duración del incremento nocturno en la secreción de melatonina es muy importante en la señalización fotoperiodica. De este modo,

agregaron, en condiciones naturales el decremento otoñal en la longitud del día y la resultante expansión de la elevación nocturna de melatonina puede ser utilizada para producir una estación reproductiva de duración normal.

Con la finalidad de saber si el patrón anual de secreción de melatonina tiene variaciones en las ovejas bajo fotoperiodo natural, Guerin y colaboradores (1989) midieron las concentraciones de esta hormona a través del año en ovejas a una latitud sur de 35°. De esta forma encontraron que la secreción de melatonina se inició en todos los momentos del año inmediatamente después del crepúsculo y particularmente en el invierno. En compensación, en algunos momentos varió de acuerdo al amanecer (primavera y otoño). Por otro lado, no encontraron cambios en la amplitud de secreción de melatonina a través del año. Por ello, sugirieron que la amplitud de los ritmos no es un importante factor para la transducción de la señal fotoperiodica hacia el sistema reproductivo.

4.2.3. Trabajos integrativos. En 1987, Robinson y Karsch propusieron que la historia fotoperiódica y un cambiante patrón de secreción de melatonina podía determinar la respuesta neuroendócrina de la oveja a diferentes longitudes del día, y que dependiendo de tal historia fotoperiodica, en algunas ocasiones los animales presentarán respuestas neuroendócrinas opuestas a las que deberían de tener. Así, aunque las ovejas estén expuestas a días largos pueden experimentar pulsos de secreción de LH siempre y cuando el fotoperiodo muestre tendencia a decrecer.

Un estudio tendiente a evaluar el control estacional y hormonal de la secreción pulsátil de LH en las cabras fue realizado por Chemineau y colaboradores (1988), concluyendo que los efectos de la estación del año sobre la reproducción en la oveja y la cabra son mediados por mecanismos similares, a los cuales se hace referencia a lo largo de esta revisión. Además, dicen los autores, aparentemente un cambio en la



duración del patrón nocturno de secreción de melatonina altera la respuesta hipotalámica a estradiol, lo cual precede a cambios en la frecuencia de pulsos de LH. Así, pulsos de baja frecuencia "apagan" el sistema reproductivo, mientras que pulsos de alta frecuencia lo "encienden".

#### **4.3. Hallazgos por extirpación quirúrgica o lesión sobre estructuras nerviosas.**

El como se dá la interacción entre el cerebro y el sistema endócrino, ha sido el objetivo de diversas investigaciones, algunas de las cuales se describen a continuación.

4.3.1. Glándula pineal. El papel de la glándula pineal en el control fotoperiódico de la reproducción fue estudiado por Bittman y colaboradores (1983a) para saber si tal control se produce mediando los efectos de retroalimentación negativa de estradiol sobre la secreción de LH. Para ello, usaron dos grupos de ovejas pinealectomizadas sometidas durante dos años a periodos alternados de 90 días cada uno, en fotoperiodo largo y corto. Uno de los grupos mantuvo sus ovarios intactos y otro fue ovariectomizado e implantado con estradiol para monitorear la inhibición de la retroalimentación a estradiol por medio de la LH. Sus resultados fueron los siguientes: los efectos reproductivos de la pinealectomía se correlacionaron con la eliminación de la elevación nocturna en los niveles de melatonina. En ovejas con pineal intacta, la función reproductiva fue manipulada por el fotoperiodo, es decir, días largos inhibieron la ciclicidad ovárica e incrementaron la potencia de la retroalimentación negativa a estradiol. Días cortos, mientras tanto, tuvieron el efecto contrario. Por otra parte, en animales pinealectomizados se abolieron tanto los efectos inductivos de los días cortos, como los efectos inhibitorios de días largos. Así mismo, se eliminó el aumento nocturno en la secreción de melatonina. Sin embargo, tiempo después de realizada la

pinealectomía, la respuesta estacional en algunos animales fue eventualmente recuperada. Estos resultados llevaron a los autores a concluir que la pineal es mediadora del control fotoperiódico de la actividad reproductiva, lográndolo, al menos en parte, por el cambio en la capacidad del estradiol para inhibir la secreción de LH. Además que la pineal es mediadora de la respuesta a fotoperiodos inhibidores o activadores de la actividad reproductiva. Por último dicen que el hecho de que algunas ovejas pinealectomizadas respondan a cambios en el fotoperiodo, permaneciendo estacionales, se puede deber a la presencia de pinealocitos remanentes postcirugía o bien a la existencia de otra fuente no pineal de secreción de melatonina, aunque lo más probable es que este existiendo una respuesta a otros factores ambientales tales como la temperatura y calidad del alimento que no fueron controladas en su estudio. Finalmente, hablan de la posibilidad de que se estén expresando otros ritmos endógenos circanales.

Bittman y colaboradores (1983b) realizando un trabajo similar llegaron a la conclusión de que la pineal es mediadora de la respuesta reproductiva de la oveja a fotoperiodos inductivos a través de ritmos diarios de secreción de melatonina. Esto porque observaron fluctuaciones en las concentraciones de esta hormona a lo largo del día, correspondiendo niveles altos a periodos de obscuridad y visceversa. Además, al transferir ovejas de un fotoperiodo largo a uno corto observaron un importante cambio en la duración de la secreción nocturna de melatonina, así como una reducción en la potencia del estradiol a retroalimentación negativa para la secreción de LH durante el periodo normal de anestro.

Más tarde, sabiendo que la estacionalidad reproductiva en la oveja se encuentra regulada por el fotoperiodo a través de un mecanismo dependiente de la pineal y que el cambio en la habilidad del estradiol para inhibir la secreción tónica es crítico, Bittman y colaboradores (1985) sugirieron que durante el anestro, estos esteroides ováricos

ganan habilidad para disminuir la frecuencia de secreción pulsátil de LH a través de una acción sobre el cerebro. Para probar esto, administraron implantes de estradiol a ovejas ovariectomizadas y las expusieron a fotoperiodo corto durante el anestro de verano. Ello reveló que la longitud del día puede controlar la frecuencia de pulsos de LH. Después de eliminar los implantes de estradiol, la frecuencia de pulsos de LH permaneció diferente entre los días largos y cortos, lo cual les hizo sugerir que existe una modulación fotoperiódica de LH y una posible secreción de GnRH independiente de los esteroides gonadales. Por otra parte, observaron que la expresión de los efectos de la longitud del día, tanto en presencia como en ausencia de estradiol, no ocurrieron al trabajar con ovejas pinealectomizadas. Estos resultados llevaron a concluir a los autores que la longitud del día actúa a través de la secreción pineal de melatonina para regular un pulso neural generador de LH el cual, por cambio de frecuencia de pulsos de GnRH, determina la estacionalidad reproductiva en la oveja.

Kennaway y colaboradores (1981) trabajaron con carneros a los cuales se les practicó la pinealectomía, observando que los niveles basales de prolactina disminuyeron entre la primavera y el invierno en los animales intactos ( $44 \pm 2$  ng/ml), mientras que en los operados se observó un patrón de comportamiento bifásico en los niveles de esa hormona ( $56 \pm 9$  ng/ml en la primavera,  $12 \pm 3$  ng/ml en el verano,  $45 \pm 8$  ng/ml en el otoño y  $25 \pm 5$  ng/ml en el invierno). No encontraron otras diferencias significativas o efectos de tratamiento en la frecuencia episódica de prolactina o en la altura de los picos ni encontraron que la pinealectomía alterara los ritmos ultradianos de prolactina. En cuanto a la frecuencia de los picos de LH, encontraron que los animales control exhibieron una diferencia estacional, siendo mayor en la primavera que en otras épocas del año. Mientras tanto, los pinealectomizados no mostraron cambios en la secreción de LH. Tampoco observaron efectos estacionales o de tratamiento sobre los niveles de testosterona plasmática. Los niveles de FSH tendieron

a ser más altos en los animales control durante el otoño, no observándose esto en animales pinealectomizados. Todos estos resultados llevaron a los autores a concluir que la glándula pineal del camero se encuentra involucrada en algunos aspectos de la reproducción estacional aunque no necesariamente es el controlador maestro de este comportamiento. Actúa sincronizando la secreción hormonal mediante cambios ambientales, siendo particularmente importante la variación en el fotoperíodo.

#### 4.3.2. Ganglio cervical superior, núcleo supraquiasmático y tracto retinohipotalámico.

La simpatectomía, consistente en la remoción del ganglio cervical superior para eliminar la inervación simpática de la glándula pineal, fue otra de las formas de esclarecer los mecanismos neuroendócrinos reguladores de cambios estacionales.

Maxwell y colaboradores (1989) sostenían la hipótesis de que la densidad y afinidad de  $\beta$ -adrenoreceptores pineales en ovejas era modificada por la estación del año, mediante esteroides gonadales y mediante la inervación simpática de la glándula. Por ello, realizaron un estudio en ovejas en anestro (octubre) y en estación reproductiva (mayo), tendiente a relacionar los efectos de las hormonas esteroides ( $E_2$  y  $P_4$ ) sobre los receptores y la influencia de la inervación simpática de la glándula pineal (GCS) en los eventos endócrinos postreceptor. Para ello practicaron la simpatectomía en ovejas maduras. Los resultados fueron la abolición del patrón secretorio normal de melatonina (bajo durante el día y alto durante la noche) en los animales simpatectomizados independientemente de la época del año. La simpatectomía también disminuyó las concentraciones de prolactina, siendo este efecto más notable durante las horas del día, cuando las concentraciones de melatonina son más bajas respecto a las de la noche. Este trabajo llevó a los autores a sugerir que los cambios mediados por esteroides en el número y afinidad de receptores son reflejados en eventos endócrinos post-receptor. Además, agregaron, otros factores (p.e. la

información fotoperiódica transmitida vía inervación simpática) también juegan un importante papel en la regulación de la secreción de prolactina. La retroalimentación negativa mediada por esteroides hacia la liberación adenohipofisiaria de prolactina es tanto originada en forma directa, como por la elevación de la melatonina pineal.

Lincoln (1979) realizó la simpatectomía para saber si los ritmos de secreción de prolactina son afectados por ésta, encontrando que mientras en los animales intactos hubo una variación plasmática a corto plazo (ciclo diario) y largo plazo (estacional) en los niveles de prolactina respondiendo a la longitud del día, en los simpatectomizados solo hubo respuesta a largo plazo y que los periodos de hipersecreción de estos últimos se dieron en periodos diurnos.

En 1979, Cardinali y colaboradores reunieron en una publicación evidencias experimentales de que la glándula pineal y las neuronas simpáticas que la inervan son un modelo neuroendócrino de utilidad para el estudio de los mecanismos básicos de interacción neuro-hormonal. Tal evidencia la resumieron en los siguientes puntos, indicando que estos prueban la existencia de procesos de transducción neuroendócrina, endócrino-neural y endócrino-endócrina en los pinealocitos y sus neuronas aferentes:

- 1) Presencia de receptores para diversas hormonas (estradiol, testosterona,  $5\alpha$ -dihidrotestosterona,  $P_4$  y prolactina) en la glándula pineal.
- 2) Metabolismo de esteroides en la glándula pineal, semejante al observado en otras zonas centrales participantes en la regulación de la secreción de gonadotrofinas.
- 3) Control de los receptores estrogénofilicos y androgénofilicos pineales por norepinefrina y a través de un receptor  $\beta$ -adrenérgico.
- 4) Supersensibilidad de los receptores pineales para estrógenos y andrógenos por denervación.

- 5) Modificación de la actividad neuronal por el tratamiento hormonal y a nivel de sitios de acción ganglionares y preganglionares.
- 6) Receptores estrogénofilos en el ganglio cervical superior.
- 7) Correlación de la respuesta pineal a hormonas con el nivel de actividad de las neuronas aferentes.
- 8) Modificación, por hormonas, de mecanismos  $\beta$ -adrenérgicos.
- 9) Disociación de efectos hormonales en aquellos mediados o modulados por la innervación, y los ejercidos en forma directa, independientemente del estado de la vía simpática.

En 1982, Lincoln y colaboradores realizaron un estudio tendiente a establecer la fluctuación por hora en los niveles de melatonina, prolactina, LH, FSH y testosterona en carneros sometidos a periodos alternados de 16 semanas en 8hL:16hO y 16hL:8hO y detectar los posibles efectos de la simpatectomía craneal en tales parámetros. Estos autores encontraron que en los animales intactos, los testículos redujeron su tamaño durante los días largos y las concentraciones sanguíneas (valores promedio en 24 horas) de FSH, LH y testosterona disminuyeron. Mientras tanto, los niveles de prolactina se elevaron notoriamente aún cuando no hubo cambio significativo en los niveles promedio de melatonina. Tanto en fotoperiodos largos como cortos, se observó en estos animales una considerable variación, hora a hora, en todas las hormonas, lo cual es indicativo de una secreción episódica. También se presentó una variación hormonal consistente según el momento del día, lo cual fue particularmente notorio para el caso de la melatonina. Igualmente, hubo una clara diferencia en el perfil diario de melatonina plasmática entre los días largos y cortos. Por otra parte, por lo que respecta a los carneros gangliectomizados, no se observaron cambios significativos en el tamaño testicular o los valores hormonales entre días cortos y largos. Así,

comparando los niveles plasmáticos de LH, FSH, testosterona y prolactina, estos se encontraron en un rango intermedio con respecto a los animales intactos. Solo observaron cierta variación diurna en los niveles de todas las hormonas medidas, pero con esquemas muy diferentes a los del grupo control, como lo fue el caso de la melatonina. Por lo anterior, los autores concluyen que el papel de la melatonina en el control fotoperiódico de la reproducción en carneros es evidente, lo cual se demostró por un cambio en el perfil circádico en los niveles de melatonina cuando los animales fueron transferidos de días cortos a días largos, y que a su vez se correlacionó con el cambio en los niveles de prolactina, FSH, LH y el tamaño testicular. Además, porque después de la gangliectomía cervical superior, el modelo de secreción de melatonina fue interrumpido tanto bajo días cortos como largos, y el efecto fotoperiódico sobre la reproducción se perdió.

En otro de sus trabajos, Lincoln y Almeida (1982) quizá con el afán de reafirmar el trabajo anterior, trataron de dilucidar si se puede lograr la inhibición de la reproducción en carneros por medio de días largos o por el efecto agudo de la extirpación del ganglio cervical superior. Para ello usaron 6 animales castrados los cuales recibieron implantes de testosterona para mantener niveles circulantes constantes. Los animales fueron expuestos a un régimen alternado de 16 semanas en días largos y 16 semanas en días cortos por aproximadamente un año. Durante todo ese tiempo lograron mantener niveles relativamente constantes de testosterona (4,3 a 6,4 ng/ml), mientras que los niveles de LH y prolactina variaron en relación a la alternancia en el fotoperíodo, ocurriendo bajos niveles de LH durante los días largos, en los cuales los animales estaban hiperprolactinémicos. Durante este periodo, practicaron la gangliectomía a 4 carneros. Con ello el efecto de días largos sobre la secreción de LH y prolactina se perdió. Así, las concentraciones de prolactina comenzaron a declinar después de 2 semanas y se incrementaron los niveles de LH.

Además, la gangliectomía influyó en los niveles de melatonina plasmática, ya que después de la operación no hubo gran consistencia en los valores circádicos de melatonina, eliminándose además el incremento asociado a los periodos de oscuridad. Con estos resultados, los autores sugirieron que el patrón secretorio de melatonina se encuentra involucrado en el control de la reproducción estacional en carneros. Así mismo, argumentaron que el fotoperiodo normalmente regula la actividad secretora de la hipófisis anterior, a través del ritmo de liberación de melatonina. Además propusieron que en animales gangliectomizados, la administración de melatonina exógena puede restaurar la respuesta al efecto del fotoperiodo sobre los niveles de LH y prolactina, perdida por la cirugía.

Otras regiones cerebrales comunmente estudiadas en el tema de transducción neuroendócrina, son el núcleo supraquiasmático (NSQ), el área hipotalámica anterior (AHA) y el hipotálamo medio basal (HMB). Stetson y Watson (1976), lesionaron el NSQ en "hamsters", encontrando que se provocaba la abolición de ritmos circadianos tales como la actividad locomotora, la ciclicidad estral y la sensibilidad fotoperiodica. De ese modo, las hembras se mostraron en estro persistente, es decir la regresión gonadal inducida normalmente por días cortos no se presentó; en ambos sexos la actividad locomotora fue esporádica, dándose primordialmente en los periodos de luz y totalmente arritmica cuando a los animales lesionados se les expuso a oscuridad continua.

Przekop y Domanski (1980) estudiaron el efecto de la lesión del NSQ sobre la ciclicidad estral en ovejas Merino. Con ello observaron que las ovejas lesionadas continuaron teniendo ciclos estrales y ovulación a todo lo largo de la estación reproductiva, y que en algunas de estas, dicha actividad se extendió hasta el periodo no reproductivo. Esto llevó a los autores a sugerir que el núcleo supraquiasmático juega un papel importante en la transmisión de la acción inhibitoria del área preóptica y



suprimiendo la liberación de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) durante el periodo normal de anestro.

Jackson y colaboradores (1986), realizaron un estudio con la finalidad de determinar si las ovejas sujetas a deaferentación hipotálmica frontal (DHF) durante el anestro, permanecen en anestro; y si la secreción de melatonina es interrumpida por la DHF. Estos autores hallaron que el daño a la región del NSQ, provocada por la DHF, durante el anestro no tiene efecto detectable sobre el inicio o el cese de la próxima estación reproductiva pero prolonga las subsecuentes estaciones reproductivas. El daño en el NSQ durante la estación reproductiva, ocasionó que algunas ovejas ciclaran continuamente. Los efectos de la DFH no fueron debidos aparentemente, dicen, a la eliminación de la secreción de melatonina. Las ovejas operadas que mostraron ciclicidad reproductiva prolongada no tuvieron cambios estacionales normales en las concentraciones plasmáticas de prolactina. Con esos resultados, los autores sugieren la existencia de un control estacional de las diferentes estructuras neurales en los modelos de secreción de gonadotropinas y prolactina.

Przekop y Domanski (1980), practicaron la lesión en el AHA (3 ovejas), observando que no afectó los ciclos estrales. Por otro lado, al provocar lesión al HMB, propiciaron el cese de la ciclicidad estral y la ovulación, disminuyéndose el número y tamaño de células gonadotróficas. Así mismo, hubo atrofia ovárica y una baja concentración basal de LH en plasma. Esto lo atribuyeron a la probable lesión de las neuronas que producen o transportan GnRH a la eminencia media.

Por su parte, Kwok-Yuen y colaboradores (1982) estudiaron el efecto de la desconexión neural entre el hipotálamo anterior y mediobasal (deaferentación hipotalámica frontal -DHF-) sobre la secreción de LH, la ovulación y la estación reproductiva en la oveja, encontrando que esta operación no previene la expresión del ciclo estral. Además, dicen, la comunicación entre el hipotálamo anterior y mediobasal

es esencial para un oleaje normal de LH pero no lo es para que la ovulación ocurra y, por último, la DHF no interrumpe la estacionalidad reproductiva en ovejas.

En resumen, tanto la pinealectomía como la simpatectomía provoca un cambio en el patrón secretorio de melatonina, es decir, no se observa el aumento de la hormona característico durante las horas de obscuridad. Con ello, se elimina la respuesta estacional al fotoperiodo y por lo tanto también se pierde la variación circanual en la secreción de gonadotrofinas. En tanto, la lesión sobre el NSQ o el AHA, además de abolir la expresión de los ritmos diarios, provoca efectos diferentes de acuerdo a la etapa del ciclo estral en que es practicada. Así, en ovejas en estro no detiene la actividad sexual, observándose inclusive una extensión de ésta hasta el periodo normal de anestro; en tanto, en ovejas en anestro no provoca ningún efecto sobre el inicio o el cese de la próxima estación reproductiva, pero prolonga las subsecuentes estaciones reproductivas. Finalmente, la lesión sobre el HMB en ovejas en estro provoca el cese de actividad sexual y cese de ovulación, observándose atrofia gonadal y disminución en la concentración de gonadotrofinas.

4.3.3. Trabajos integrativos. Legan y Winans (1981) afirman que los cambios estacionales en el fotoperiodo son traducidos dentro de cambios bianuales en respuesta del eje hipotálamo-hipófisis a la retroalimentación negativa de estradiol y que tales cambios en respuesta a retroalimentación de esteroides juega un papel primordial en el inicio o el cese de actividad reproductiva por medio de su capacidad para promover o prevenir un incremento sostenido de LH circulante. Además, que la elevación sostenida de LH es el paso crítico en una secuencia de eventos previos a la ovulación, por lo tanto de que esto se dé o no, depende que aparezca la estación reproductiva o que el anestro continúe (de acuerdo a la sensibilidad del hipotálamo a retroalimentación negativa de estradiol). De tal modo, cuando la sensibilidad a

retroalimentación negativa de estradiol es baja, pueden ocurrir aumentos sostenidos de LH y actividad reproductiva. Cuando la sensibilidad es alta, no ocurre la elevación de LH y se dá como resultado el anestro. En relación a la transmisión de señales fotoperiodicas que controlan la actividad reproductiva, indican que la información hasta el momento no es completa, aún queda pendiente determinar si las ovejas emplean los ojos o fotoreceptores de la retina, o bien emplean receptores olfatorios para el control de la reproducción estacional. Por último, enfatizan en la importancia de los estudios tendientes a esclarecer la transmisión de información fotoperiodica, entre los que destacan aquéllos realizados sobre el tracto retinohipotalámico, el núcleo supraquiasmático, el ganglio cervical superior y la glándula pineal.

#### **4.4. Estudios en corderos.**

Actualmente, se sabe que la melatonina se encuentra circulante en la sangre del cordero desde antes de su nacimiento. Sin embargo, ésta aparentemente deriva tanto de la madre como del feto, ya que la melatonina es capaz de atravesar la placenta. La presencia de melatonina en la circulación después del nacimiento indica que la glándula pineal es activa desde la vida temprana. Además la cordera prepúber puede producir un ritmo de melatonina en respuesta al ciclo de luz/obscuridad (Foster, 1988).

En un experimento realizado con corderas las cuales fueron expuestas a días cortos (9hL:15hO) y posteriormente invertidos por un bloque de 5 semanas con días largos (15hL:9hO), se encontró que durante los días cortos la duración de los niveles nocturnos de melatonina fueron mayores que durante los días largos. Todas las apreciaciones anteriores le han conferido a la hormona su papel de "custodiadora del tiempo" tanto en los corderos sexualmente inmaduros como en los ovinos adultos (Foster, 1988).

Estudios recientes revelan que la secreción de prolactina se eleva al exponer tempranamente a los corderos a días largos, pero esta respuesta puede ser bloqueada por la interrupción quirúrgica de la secreción de melatonina. Este hecho y que se encuentren en muchos corderos niveles apreciables de melatonina, desde la primer semana de vida, indican que el animal es capaz de usar desde recién nacido la melatonina para mediar los efectos del fotoperiodo sobre su función neuroendócrina (Foster, 1988).

Con el objeto de determinar la edad a la cual se originan ritmos diurnos en la concentración plasmática de prolactina en corderos recién nacidos e investigar la relativa contribución de la glándula pineal materna y del cordero en sus niveles de melatonina plasmática, Nowak y colaboradores (1990a) condujeron un trabajo en el cual midieron el perfil circádico de tal hormona desde el nacimiento hasta las 10 semanas de edad en corderos paridos y amamantados ya sea de ovejas intactas o de pinealectomizadas. Su trabajo arrojó las siguientes apreciaciones: Se observó un claro ritmo plasmático diurno en las concentraciones de melatonina el cual no se origina hasta las 3 ó 4 semanas de edad tanto en corderos amamantados de ovejas intactas como pinealectomizadas (Corderos amamantados de ovejas intactas: oscuridad =  $164.1 \pm 5.6$  pmol/l; luz =  $26.2 \pm 2.5$  pmol/l.; Corderos amamantados de ovejas pinealectomizadas: oscuridad =  $52.7 \pm 8.0$  pmol/l; luz =  $19.1 \pm 5.3$  pmol/l;  $P < 0.001$ ), aunque los niveles de melatonina durante la fase de oscuridad en corderos amamantados de ovejas pinealectomizadas fueron más bajos en comparación con aquéllos amamantados de ovejas intactas, entre las 3 y 10 semanas de edad. Lo anterior muestra la capacidad de la pineal del cordero desde la tercera o cuarta semana de edad para producir un ritmo de secreción de melatonina, aunque las concentraciones plasmáticas de la hormona son la suma de la secreción propia de la pineal del cordero y de la adquirida a través de la leche materna.

Ebling y colaboradores (1988) condujeron un trabajo encaminado a evaluar los niveles circulantes de prolactina durante el periodo postnatal temprano en corderos para detectar su respuesta al fotoperiodo. Para ello realizaron tres experimentos diferentes: 1) Expusieron a corderos de 1 semana de edad, de ambos sexos con sus madres a días largos o cortos (16 u 8 horas luz/día) para probar si los animales son capaces de discriminar entre diferentes longitudes del día. En este experimento, ambos sexos mostraron niveles altos de prolactina con días largos y visceversa, durante las primeras 7 semanas de nacimiento; 2) Mantuvieron corderas en días largos desde la segunda semana de vida. Posteriormente fueron gangliectomizadas a las 4 semanas de edad, con la finalidad de lesionar la inervación simpática de la pineal. Con ello lograron bloquear el incremento nocturno de secreción de melatonina. Después de la cirugía, las concentraciones plasmáticas de prolactina en días largos fueron significativamente menores en las corderas gangliectomizadas que en las intactas; 3) Incrementaron artificialmente la amplitud de la elevación nocturna de melatonina en corderas de 2 a 7 semanas de edad a niveles adultos mediante la infusión nocturna diaria de melatonina. De esta forma, observaron que las concentraciones circulantes de prolactina no fueron diferentes entre corderas que recibieron o no infusión de melatonina. Con los resultados de sus tres experimentos, los autores concluyeron que los ovinos pueden discriminar fotoperiodos durante el periodo postnatal temprano y que los ritmos de melatonina de baja amplitud en los corderos neonatos son suficientes para mediar esta respuesta. Aunque la última conclusión no puede derivarse de sus experimentos dado que la infusión de melatonina exógena fue incapaz de modificar la secreción de prolactina.

Foster (1988), al realizar la extirpación del GCS en corderos Suffolk de 6 semanas de edad, probó que se retrasa la iniciación de los ciclos reproductivos, lo cual sugiere que la función normal de la pineal es necesaria para iniciar la pubertad en la

estación apropiada. Es decir, la ciclicidad en corderos con función pineal ausente (pinealectomizados) o deteriorada (ganglioectomizados) se presenta pero en forma tardía. Asimismo, la administración de melatonina altera la iniciación de los ciclos reproductivos en corderos con denervación pineal, lo que significa que este tratamiento reemplaza la función epifisaria y de este modo se logra la iniciación de la pubertad a edad normal. Si a corderos ganglioectomizados se les expone a un modelo de días cortos-largos-cortos, generalmente falta la iniciación de los ciclos durante el primer año. Esto muestra que la función pineal a edad temprana en corderos es necesaria para el inicio normal de la ovulación. En contraste, cuando a corderos ganglioectomizados que no fueron expuestos al modelo fotoperiódico mencionado se les administra melatonina diariamente, se logra la inducción de mayor número de ciclos reproductivos en el primer año.

## **5. APLICACIONES DE LA MELATONINA EN PEQUEÑOS RUMIANTES.**

### **5.1. Adelanto de la pubertad y ruptura del anestro.**

Hasta este momento estaba claro que dos hormonas eran las que sufrían una variación circanual asociada a la actividad reproductiva, la prolactina y la melatonina. Posiblemente debido a las enormes evidencias de la acción antigonadotrófica de la melatonina en especies de reproductores de días largos, la atención de las investigaciones se centró, como se mencionó en el capítulo anterior, en la prolactina como posible mediador del mecanismo de reproducción estacional en ovejas y en cabras. Sin embargo, la inmensa mayoría de las manipulaciones en los niveles de prolactina fueron infructuosas en desencadenar la actividad reproductiva fértil durante la etapa de anestro. Así fue que se inició el análisis de la acción de la melatonina en estas especies.

Kennaway y colaboradores (1982) apoyándose en la teoría de que la actividad reproductiva de las ovejas es fotoperiodo dependiente, respondiendo a días cortos, y que la glándula pineal es la responsable de esta respuesta, a través de la secreción de melatonina, administró dicha hormona por vía oral en el alimento a dosis de 2 mg/día durante 15 semanas y días largos, a ovejas en anestro. Su trabajo logró inducir actividad reproductiva. El mismo autor y colaboradores (1982-83) mas adelante, al tratar de dilucidar tanto el papel de la melatonina como el de la pineal en si misma sobre la actividad reproductiva experimentaron con ovejas pinealectomizadas y no pinealectomizadas en anestro tratadas con melatonina ya sea en implantes subcutáneos (1 g), que mantuvieron niveles sanguíneos de 100 y 125 a 200  $\mu\text{g}/\text{día}$ , o con inyección intramuscular diaria de 100  $\mu\text{g}$  por 9 semanas. Ellos obtuvieron el mismo resultado que en su trabajo anterior, pero además reafirmaron su teoría de que aún en ovejas pinealectomizadas se logra inducir actividad reproductiva. Es decir, el efecto obtenido no depende de la pineal, sino de la melatonina secretada por esta.

Lincoln (1984), por su parte trabajó con ciervos rojos, machos, en los cuales removió el ganglio cervical superior para denervar la pineal. A estos les administró melatonina en implantes de 1 g que mantuvieron niveles circulantes de 100 a 400  $\text{pg}/\text{ml}/\text{día}$ , lo que indujo desarrollo testicular prematuro, mismo que fue provocado por el efecto de la melatonina para la secreción de LHRH; el mismo efecto es producido también por exposición a días cortos. Dicha respuesta fue igual tanto en los ciervos normales como en los operados. Este trabajo reafirmó aún más que el efecto inductivo no depende de la glándula pineal, sino de su secreción.

A partir de todos los trabajos anteriormente citados, surgieron muchos otros tratando de reproducir los efectos inductivos de actividad reproductiva por la melatonina, usando como modelo experimental principalmente a la oveja. Así, muchos investigadores han estado continuamente interesados en usar la melatonina para

adelantar la presentación del primer estro en corderas. Moore y colaboradores (1985-86) trabajaron para ese fin con dos tipos de implantes de melatonina, grandes (435 mg) y chicos (18 mg), obteniendo resultados infructuosos independientemente de la dosis usada. Más tarde, en 1987, Poulton y colaboradores administraron implantes subcutáneos de melatonina (1 g) en corderas sometidas a fotoperiodo corto, logrando adelanto del primer estro, el cual coincidió con niveles bajos de prolactina circulante. En el mismo trabajo se trató de dilucidar la manera en que la melatonina interactúa con el eje hipotálamo-hipófisis. Para ello monitorearon los niveles de FSH y LH durante el experimento. Sin embargo, no observaron cambios significativos en las concentraciones de tales hormonas. En 1990, Nowak y colaboradores (b), al pensar que quizá existía un fenómeno refractario a la melatonina en corderas antes de la pubertad, lo cual depende de su escaso desarrollo, administraron implantes intravaginales de melatonina de 5, 10, 20 y 25 cm de largo durante 20 semanas a corderas bajo fotoperiodo largo (17 horas luz). Sus resultados fueron el adelanto por 5 semanas en el inicio de su actividad reproductiva, independientemente del estado de desarrollo y sin alteración de su tasa de crecimiento. De Lucas y García (1991) trabajaron con corderas Rambouillet bajo fotoperiodo natural a 19 de latitud norte, con animales nacidos entre los meses de enero y febrero de 1989, para inducir la pubertad, mediante la administración diaria de cápsulas con 3 mg de melatonina, durante 31 días (del 17 de abril al 19 de mayo de 1989). Con ello lograron inducir la presentación del primer estro (valorado mediante machos celadores) en un 72% de los animales tratados con melatonina contra un 36% del grupo control. Sin embargo, al analizar el periodo de reacción de los animales éste no fue diferente entre el grupo tratado y el control (36 y 38.6 días respectivamente).

Además del trabajo anterior en nuestro país también se ha utilizado la melatonina para desencadenar la actividad reproductiva de animales en anestro. Por



ejemplo, Márquez y colaboradores (1985) y Contestabile y colaboradores (1985) realizaron sus investigaciones en México, a los 19 de latitud norte. Márquez y colaboradores (1985), trabajaron con ovejas Corriedale adultas con más de 6 meses de paridas a las cuales les administraron 3 mg diarios de melatonina en 100 g de harina de trigo por animal por un periodo de 87 días, del 21 de febrero al 20 mayo. Con ello lograron inducir actividad estral, valorada a través de machos marcadores, en el 85 % de las ovejas tratadas, en comparación a la nula presentación de celos en el grupo control. El periodo de respuesta en tales animales fue de  $59 \pm 21$  días después de iniciado el tratamiento. Contestabile y colaboradores (1985), por su parte administraron melatonina a la misma dosis y vía de administración que el trabajo anterior, pero durante 74 días en cabras Alpinas adultas en época normal de anestro, logrando un porcentaje mayor de animales en celo en el el grupo tratado que en el control (92 y 54 % respectivamente), presentándose dicha actividad sexual a los  $33 \pm 8$  días de iniciado el tratamiento.

Chemineau y colaboradores (1986) trabajaron con melatonina intramuscular a dosis de 2 mg/día por 40 días en cabras en anestro lactacional, para demostrar su hipótesis de que la melatonina exógena es capaz de provocar actividad sexual sólo si el tratamiento es precedido por un periodo de estancia en días largos. Ello resultó cierto y explicaron tal fenómeno por el hecho de que la inducción de la secreción de melatonina provocada por días cortos, en un inicio mantiene al animal en un periodo refractario a la acción de dicha hormona, por lo que el decremento en el fotoperiodo debe ser gradual y no brusco. Stellflug y Nett (1988) lograron el mismo efecto por administración de melatonina en el alimento en dosis de 10 mg/día durante 12 semanas, tras días largos. Sin embargo, el trabajo de Luhman y Slyter (1986) demuestra que tanto la manutención de ovejas en anestro bajo fotoperiodo corto como la administración de melatonina a dosis de 3.5 mg/día por 11 semanas, en las mismas

condiciones de fotoperiodo, induce actividad sexual.

Wheaton y colaboradores (1990) utilizaron un tratamiento de melatonina ya sea oral (1 mg/día) o mediante implante subcutáneo, durante 40 días, además de P<sub>4</sub> para estimular la fertilidad en ovejas en anestro en los meses de primavera (marzo a mayo) y verano (junio), ya que ellos pensaban que existía una interacción entre estas dos hormonas para estimular tal situación. Sus resultados sin embargo fueron infructuosos cuando aplicaron ese tratamiento en los meses de primavera, mientras que para los meses de verano sí lograron adelantar la estación reproductiva. Por su parte, Haresign (1992) obtuvo adelanto en la estación reproductiva en ovejas que fueron implantadas subcutáneamente con melatonina a dosis de 18 y 36 mg durante 70 días entre los meses de mayo y julio.

Trabajos diversos se encuentran enfocados a demostrar el efecto negativo que genera el tratamiento con melatonina sobre las concentraciones plasmáticas de prolactina. Ello es similar a lo que ocurre con una disminución paulatina del fotoperiodo, solo que el tratamiento con melatonina exógena provoca la disminución inmediata en los niveles de prolactina. Tal es el caso de los trabajos de Kennaway y colaboradores (1982, 1982-83) y Poulton y colaboradores (1987) que ya fueron mencionados en líneas anteriores. El trabajo de Tamanini y colaboradores (1987), en el cual administraron melatonina a dosis de 2.5 mg/día durante 14 semanas, entra dentro del mismo contexto mencionado.

Milne y colaboradores (1989) en particular trataron de probar la hipótesis de que el efecto de la melatonina es mediado a través de un efecto sobre las concentraciones plasmáticas de prolactina. Para ello administraron, junto con la melatonina (10 mg/día por 4 semanas), domperidona y/o bromocriptina (un antagonista y agonista de la dopamina, respectivamente) con la finalidad de poder manipular las concentraciones de prolactina, es decir, aumentarlas en el caso de la domperidona o disminuirlas en el

caso de la bromocriptina. Estos autores lograron adelantar por 23 días el inicio de la estación reproductiva en animales tratados con melatonina, en relación al grupo control. El inicio de la estación reproductiva se asoció con el rápido declinamiento en las concentraciones plasmáticas de prolactina después del tratamiento con melatonina. Por otra parte, el tratamiento con domperidona provocó la efectiva elevación en los niveles de prolactina por 2 a 3 semanas. Sin embargo, el incremento a corto plazo en la prolactina plasmática no se asoció con cambios en el inicio de la estación reproductiva. Además, el declinamiento en los niveles de prolactina plasmática fue igual tanto en animales tratados con bromocriptina como en los tratados con melatonina. Así, el día promedio de inicio de la estación reproductiva en los animales tratados con bromocriptina no fue significativamente diferente al grupo control. De este modo, concluyen que los efectos producidos por la melatonina no se encuentran asociados a un efecto de esta sobre los niveles plasmáticos de prolactina.

Con base en todo lo anterior, puede observarse que al mismo tiempo que se ha usado la melatonina en trabajos experimentales para inducir actividad reproductiva en animales en anestro (Tamanini *et. al.*, 1987; Stellflug *et. al.*, 1988 a y b; Milne *et. al.*, 1989) con buenos resultados, también se ha usado para mantener dicha actividad una vez lograda, también con buenos resultados (Stellflug and Nett, 1988; Waller *et. al.*, 1988).

Wallace y colaboradores (1988), por su parte se ocuparon de estudiar si el tratamiento prolongado con melatonina a dosis de 3 mg/día durante 60 días en ovejas interfiere con la producción de P<sub>4</sub> por el CL durante el ciclo siguiente al estro evidente y si tal efecto se debe a que la melatonina actúa directamente sobre el CL o indirectamente a través de un incremento de la actividad hipotalámica (pulsos generadores de GnRH), además si dicho tratamiento comenzando inmediatamente después del estro altera el estado endócrino del animal. De esta forma encontraron que

en las ovejas tratadas con melatonina se presentan pulsos característicos de actividad de LH. También que las concentraciones de  $P_4$  en dichos animales fueron más altas. Todo ello, dicen, sugiere un efecto luteotrófico de la melatonina. Asimismo, detectaron concentraciones altas de LH y bajas de prolactina en las ovejas tratadas.

Dentro de los trabajos realizados en machos se encuentra el de Lincoln y McNeilly (1989), quienes administraron melatonina en carneros a dosis de 2 mg diarios en forma oral por 12 semanas, sometiendo a los animales a días largos (16HL:8HO), para inducir reactivación testicular, obteniendo resultados satisfactorios. Forsberg y Madej (1990), por su parte trabajaron con zorros silvestres para ver si la melatonina en implantes subcutáneos de 40 mg provoca adelanto en el inicio de la estación reproductiva en esos animales. Ellos detectaron altos niveles de testosterona tras la administración de melatonina, aunados a niveles bajos de prolactina.

Fitzgerald y Stellflug (1991) por su parte utilizaron implantes subcutáneos en carneros, con 18 mg de melatonina, que mantuvieron niveles circulantes de 600 pg/ml. Éllo para estimular el crecimiento testicular y tratar, una vez logrado, de prevenir la regresión testicular. Desafortunadamente, lograron estimular el crecimiento testicular, mas no evitar la regresión.

## **5.2. Mejoramiento de la eficiencia del rebaño.**

Otra de las inquietudes de los investigadores ha sido estudiar el efecto de la administración de melatonina sobre algunos parámetros productivos y reproductivos. Tal es el caso del trabajo de Amir y colaboradores (1987), quienes lograron un efecto benéfico sobre el peso del cordero recién nacido, tasa de crecimiento y producción de leche durante los primeros 10 días postparto en la oveja tras la administración intramuscular de 2 mg/día de melatonina durante 6 semanas. Por lo que respecta a prolificidad, Tamanini y colaboradores (1987) no lograron mejorarla por la

administración de 2.5 mg diarios de melatonina por 14 semanas, mientras que Stellflug y colaboradores (1988b), Haresign y colaboradores (1990) y López e Inskeep (1991) sí lograron aumentarla, además de un incremento en la tasa de preñez tras la administración de 2 y 10 mg de melatonina oral diaria en el alimento o 18 mg en implante subcutáneo; implantes subcutáneos con 18 y 36 mg; e implantes subcutáneos que mantuvieron niveles circulantes de 500 a 1000 pg/ml por 70 días, respectivamente.

Stellflug y Nett (1988) solo lograron mantener la prolificidad en niveles comparables a los que se observan en la estación reproductiva natural cuando administraron la melatonina en dosis de 10 mg diarios por 12 semanas. En tanto que Haresign (1992a) nuevamente obtuvo incremento en la prolificidad de ovejas tratadas con implantes subcutáneos de melatonina (18 mg), con un efecto adicional si se usan 2 implantes (36 mg). En un trabajo inmediato, Haresign (1990b) logró incrementar la tasa ovulatoria y por tanto el tamaño de la camada por la administración de implantes subcutáneos con 18 mg de melatonina, puntualizando también en ese trabajo que conforme se incrementa el intervalo entre tratamiento con melatonina e introducción del macho, disminuye el tiempo que el macho deberá permanecer con las ovejas.

Por su parte, Stellflug y colaboradores (1988a) lograron un incremento en el número de ovejas paridas tras la administración de melatonina (2 y 10 mg/día durante 40 días o mediante implantes subcutáneos con 18 mg de melatonina); sin embargo Wallace y colaboradores (1988) no obtuvieron mejora sobre la tasa ovulatoria ni la sobrevivencia embrionaria al usar 3 mg de melatonina diaria por 60 días. Nowak y colaboradores (1990) tampoco obtuvieron beneficios sobre la tasa de crecimiento de corderos provenientes de ovejas tratadas con implantes intravaginales de 5, 10, 20 y 25 cm de largo.

## 6. APLICACIONES DE LOS ANÁLOGOS DE MELATONINA.

El uso de análogos de melatonina para probar su igualdad de efectos a los de la melatonina es relativamente reciente. Así, se encuentran en la literatura trabajos de investigación a partir de la década de los 80's. Algunos, están dedicados a probar su efecto sobre el sistema reproductivo de los roedores, o bien a estudiar el efecto sobre los niveles plasmáticos de hormonas tiroideas también en roedores. Otros se han enfocado a dilucidar si la melatonina es la hormona pineal directamente involucrada en mediar los efectos fotoperiódicos, o a probar la potencia de otros productos estructuralmente similares a ella.

Entre los estudios tendientes a valorar el efecto de los análogos de melatonina sobre el sistema reproductivo de los roedores, se encuentra el de Pévet y colaboradores (1981), en el que evaluaron el efecto antigonadotrópico de la 5-metoxitriptamina y el 5-metoxitriptofano en "hamsters" machos, administrándolos mediante la inyección de 25 µg diarios por la tarde durante 51 días bajo ciclo de luz-obscuridad 14:10. Con ello lograron provocar involución testicular solo en el caso de la 5-metoxitriptamina. Sin embargo, el uso del mismo análogo administrado por la mañana no logró tales efectos.

Los resultados de Rollag (1982) coinciden con los del trabajo anterior en cuanto al efecto antigonadotrópico de la 5-metoxitriptamina en "hamsters", aunque aclara que su efecto fue de solo un 10% del efecto de la melatonina. Asimismo, al probar el análogo 5-metoxitriptofol no encontró actividad antigonadal en tales animales.

Un análogo halogenado que ha probado ser equiparable a la melatonina desde el punto de vista antigonadotrópico en "hamsters" es la 6-cloromelatonina, ya que provoca reducción significativa en el peso testicular y de órganos sexuales accesorios, así como disminución en los niveles plasmáticos de LH y pituitarios de prolactina (Richardson *et. al.*, 1983).

Little y colaboradores (1986) por su parte evaluaron la efectividad de los análogos 5-metoxitriptofol y O-acetil-5-metoxitriptofol en comparación con la melatonina sobre el sistema endócrino de "hamsters" hembras. Todos los animales que trataron con melatonina se mostraron acíclicos y a la inspección los ovarios se encontraron lisos y desprovistos de folículos de Graaf o cuerpos lúteos. Los niveles de  $P_4$  en estos animales se mantuvieron en niveles intermedios para la especie. También tuvieron pesos uterinos bajos y sus niveles de prolactina pituitaria y plasmática fueron bajos. Respecto a los análogos ninguno tuvo efecto sobre el peso ovárico y de órganos sexuales. Sin embargo, el O-acetil-5-metoxitriptofol redujo significativamente tanto la LH como la prolactina pituitarias, así como la LH plasmáticas. Por otro lado, los niveles de FSH se mantuvieron consistentemente altos. Pese a lo anterior, no se logró interrumpir la regularidad del ciclo estral en los animales. Por su parte, el 5-metoxitriptofol produjo niveles reducidos de prolactina pituitaria y altos de prolactina plasmática.

Como ya se mencionó, existen otros trabajos encaminados a probar, si los análogos de melatonina son capaces, al igual que ésta, de suprimir la secreción de hormonas tiroideas e influir en los niveles de colesterol y triglicéridos plasmáticos en "hamsters". Un ejemplo de ello, son los estudios de Vaughan y colaboradores (1983 y 1984). En su primer trabajo probaron diversos análogos naturales (N-acetilserotonina, 6-hidroximelatonina, hidroxitriptofol y metoxitriptofol) y sintéticos (hexanoilmetoxitriptamina, propionilmetoxitriptofol, 6-cloromelatonina y acetilmetoxitriptofol), encontrando que ninguno de estos afectó los niveles de tiroxina, triyodotironina o TSH, a dosis en que la melatonina es reproduciblemente efectiva. El único análogo que provocó niveles elevados de colesterol fue la 6-cloromelatonina. Mientras tanto la melatonina, el propionilmetoxitriptofol, la 6-cloromelatonina y el acetilmetoxitriptofol provocaron niveles plasmáticos de triglicéridos mayores a los del

grupo control. Por último, el tejido adiposo café interescapular fue significativamente más abundante en los "hamsters" tratados con melatonina.

En otro trabajo Vaughan y colaboradores (1984) probaron si la 5-metoxitriptamina posee el mismo efecto supresor de la melatonina en las concentraciones de tiroxina, encontrando que la melatonina es considerablemente más efectiva que el análogo mencionado en inhibir los niveles de tiroxina cuando se administra en inyecciones diarias por la tarde en "hamsters". Sin embargo, si la 5-metoxitriptamina se administra mediante implantes subcutáneos, resulta ser más efectiva que la melatonina en provocar tal supresión.

De acuerdo a lo anterior, puede observarse que prácticamente todos los trabajos tendientes a evaluar tanto la actividad antigonadotrópica como la manipulación de los niveles de hormonas tiroideas de los análogos de melatonina han sido realizados en roedores (reproductores de días largos), pero prácticamente ninguno ha trabajado con animales como las ovejas (reproductores de días cortos). Los resultados de estos trabajos muestran que varios análogos usados aparentemente no poseen actividad biológica y otros, como la 5-metoxitriptamina, sí poseen actividad aunque ésta ha mostrado ser inconsistente en muchos de los casos.



## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA E HIPÓTESIS

La oveja es un animal poliéstrico estacional, debido a que su actividad reproductiva se encuentra asociada con los días cortos, los productores han tratado de acortar el intervalo entre partos por varios métodos entre ellos los tratamientos hormonales. Se sabe que la melatonina, es una hormona producida por la glándula pineal durante los periodos de obscuridad, y que en el caso de las ovejas tiene un efecto progonadotrópico. Esta hormona traduce la información fótica en señales hormonales que provocan la activación del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas, originándose actividad sexual en reproductores de días cortos. El uso de melatonina en ovejas a pesar de que recientemente ha sido comunicado en abundancia, tiene como limitante el costo de la hormona, y los esquemas de administración tan largos. Conociendo lo anterior, el presente trabajo se enfocó a evaluar la acción progonadotrópica de dos análogos de melatonina en ovejas, con la finalidad de comparar su efecto con el de la hormona natural, así como de evaluar la viabilidad de su uso en sustitución de la melatonina para incrementar el número de ovejas ciclantes dentro del rebaño, pensando a futuro en el hallazgo de análogos más baratos y/o que requieran de menores dosis efectivas o calendarios de administración más cortos.

Al respecto, la hipótesis es que las modificaciones en las cadenas laterales de esta indolamina pueden incrementar su acción progonadotrópica, lo que puede repercutir en esquemas de dosificación aplicables en la producción ovina.

Para comparar la actividad progonadotrópica de dos análogos de melatonina (melatonina carboxilada y 5-metoxitriptamina) se utilizaron 56 ovejas distribuidas en 4 bloques de raza y edad que recibieron durante 30 días los siguientes tratamientos (Tx)/animal/día: 2 mg de melatonina (M); 1.6 mg de melatonina carboxilada (MC); 2.37 mg de 5-metoxitriptamina (5-MT); agua en el grupo control (Cx). Para evaluar la actividad ovárica en respuesta a los Tx, se tomaron muestras sanguíneas por

venopunción yugular para determinación de P<sub>4</sub> por radioinmunoanálisis. Los resultados se sometieron a análisis de varianza y de autocorrelación. Se contabilizó el número de animales que presentaron por lo menos un pico de P<sub>4</sub> > 1.0 ng/ml. Las diferencias fueron evaluadas por Q de Cochran y prueba de Fisher.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en las instalaciones del Centro de Producción Agropecuaria de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (UNAM), el cual se encuentra ubicado en el km 5½ de la carretera Cuautitlán-Teoloyucan, en el Estado de México. Esta zona se encuentra dentro de las coordenadas 19° 40' de latitud norte y 99° 11' de longitud oeste, y presenta una altitud aproximada de 2240 msnm. Es de clima templado subhúmedo con lluvias predominantemente durante el verano (mayor precipitación en junio, con valores entre los 120 y 130 mm; la precipitación mínima se da en el mes de febrero con valores menores a 5 mm). La precipitación media anual vá de 600 a 800 mm. La temperatura media anual es de 12 a 16 C, con la temperatura más cálida (18 a 19 C) en mayo y la más fría (11 a 12 C) en los meses de diciembre y enero (INEGI, 1987).

### **Animales y alimentación:**

Se emplearon 56 ovejas: 44 de raza Rambouillet y 12 de raza Suffolk, de 1 a 4 años de edad, con pesos corporales similares ( $44.8 \pm 1.7$  kg), que parieron entre los meses de noviembre y diciembre de 1992. El trabajo se inició el 17 de marzo de 1993. Los animales se mantuvieron bajo un régimen de estabulación completa en corraletas de 6 m<sup>2</sup> con 4 animales cada una, expuestas a fotoperiodo natural. Durante el estudio recibieron una dieta con aproximadamente 2.8 Mcal de energía metabolizable y 15% de proteína cruda, la cual estaba compuesta por: sorgo 60%, pasta de soya 17%, harina de pescado 5%, grasa de sobrepaso 10% y melaza 8%. La cantidad proporcionada de alimento por animal fue de 700 g diarios, además de agua y paja de avena molida suministradas a libre acceso.

### **Diseño y tratamientos:**

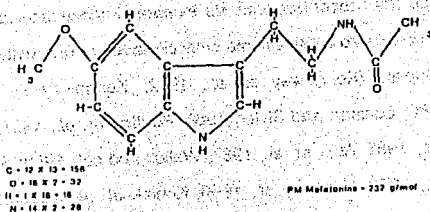
Los animales se distribuyeron por bloques de edad y raza dentro de 4 grupos de 14 individuos cada uno. Cabe aclarar que cada grupo estaba compuesto del mismo número de animales de cada raza y edad. Recibieron los siguientes tratamientos: 1) melatonina (M); 2) melatonina carboxilada (MC); 3) 5-metoxitriptamina (5-MT); y 4) agua (grupo control -Cx-). La melatonina y los análogos fueron sintetizados por el MC. Jorge Haro en el laboratorio de Química Orgánica de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. La pureza de cada compuesto fue verificada mediante cromatografía en capa fina y determinación del punto de fusión. La estructura química de la melatonina y los análogos utilizados, se muestra en la Figura 6.

La melatonina se disolvió en una solución 50:50 (v/v) de etanol-agua conteniendo 2 mg (8.62  $\mu\text{m}$ ) por cada 10 ml. Los otros dos análogos fueron preparados en solución isomolar con respecto a la melatonina. De este modo, la melatonina carboxilada se suministró a una dosis de 1.6 mg/10 ml y la 5-metoxitriptamina 2.37 mg/10 ml. Todas las soluciones fueron administradas oralmente (10 ml), con la ayuda de una pistola dosificadora. Esta práctica se realizó diariamente a las 17:00 horas durante 30 días (del 22 de marzo al 20 de abril).

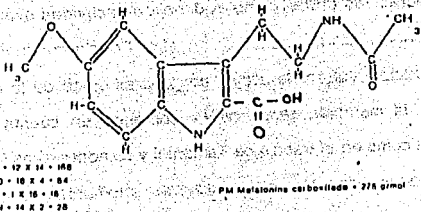
### **Muestreo sanguíneo:**

La colección de sangre se realizó por venopunción yugular dos veces por semana, a las 8:00 horas, desde una semana antes del inicio del tratamiento hasta 2 semanas después de su finalización. Para ello se utilizaron tubos al vacío de 10 ml y agujas calibre 21. Las muestras sanguíneas se dejaron en reposo a temperatura ambiente durante aproximadamente 6 horas para permitir la retracción del coágulo y posteriormente éste fue retirado. Los sueros obtenidos se depuraron en una centrifuga fría (4 C) a 2000 rpm por 15 minutos. Se les agregó una gota de solución saturada de azida de sodio y se almacenaron en congelación a -20 C para su posterior análisis.

## MELATONINA



## MELATONINA CARBOXILADA



## 5-METOXITRIPTAMINA

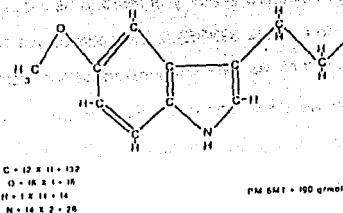


Figura 6. Estructura química de la melatonina y los análogos empleados.

### **Determinaciones hormonales:**

La valoración de las concentraciones de P<sub>4</sub> para detectar actividad ovárica en las ovejas ha sido un parámetro clásicamente seleccionado, ya que evita la ingerencia de los machos celadores (Kennaway *et. al.*, 1982; Kennaway *et. al.*, 1982/83; Chemineau *et. al.*, 1986; Luhman and Slyter, 1986; Poulton *et. al.*, 1987; Tamanini *et. al.*, 1987; Prandi *et. al.*, 1987; Amir *et. al.*, 1987; Waller and col, 1988; Stellflug *et. al.*, 1988a; Wallace *et. al.*, 1988; Milne *et. al.*, 1990; Nowak *et. al.*, 1990a; Rekik *et. al.*, 1991; López e Inskeep, 1991; Gómez *et. al.*, 1993; Zarazaga *et. al.*, 1993). Concentraciones por arriba de 1 ng/ml son consideradas por Kennaway and colaboradores (1982 y 1982/83), Chemineau y colaboradores (1986), Luhman y Slyter (1986), y Waller y colaboradores (1988) como evidencia de actividad ovárica, mientras que concentraciones menores son indicativas de anestro. Considerando lo anterior, en el presente trabajo se decidió valorar la acción progonadotrópica de la melatonina y sus análogos mediante la medición sérica de P<sub>4</sub>, tomando en cuenta inclusive la presencia de picos de P<sub>4</sub> como en el trabajo de Tamanini y colaboradores (1987).

Las determinaciones de P<sub>4</sub> se realizaron mediante la técnica de radioinmunoensayo, utilizando un anticuerpo (QKP5) específico contra P<sub>4</sub> (Herrera *et. al.*, 1993). Los esteroides fueron extraídos de 500 µl del suero problema con éter dietílico en una proporción 1:10 v/v. Posteriormente se separó la fase orgánica, en la cual se encontraba la hormona, se le evaporó el éter y el residuo se resuspendió en 2 ml de una solución amortiguadora de fosfatos (GPBS) 0.1 M (adicionada con 8.8 g de NaCl y 1.0 g de gelatina por litro pH 7.0); de esta suspensión se tomaron 500 µl por triplicado para el ensayo. El porcentaje de recuperación de la hormona durante este procedimiento se determinó mediante sueros agregados de <sup>3</sup>H-P<sub>4</sub>, siendo de 68.55 ± 6.95 %.

Las condiciones del ensayo fueron las siguientes: 500  $\mu$ l del estándar ( $P_4$  de 25 a 1600 pg/ml) o problema, 100  $\mu$ l de dilución 1:100 del Ac QKP5, 100  $\mu$ l de  $^3H$ - $P_4$  (conteniendo alrededor de 16 pg, 10,000 cpm); todas las soluciones se prepararon en GPBS. La sensibilidad del ensayo fue de 0.025 a 1.6 ng/ml. La variación intra e interensayo fue de 10.9 y 12.8 %, respectivamente.

### **Análisis estadístico:**

El análisis de varianza (ANDEVA) ha sido utilizado para detectar diferencias en las concentraciones de  $P_4$  tras la administración de melatonina (Kennaway *et. al.*, 1982 y 1982/83; Chemineau *et. al.*, 1986; Wallace *et. al.*, 1988; Gómez *et. al.*, 1993). Específicamente en este trabajo el ANDEVA se utilizó para detectar las diferencias de las concentraciones sanguíneas de  $P_4$  entre tratamientos y número de muestreo. Dicho análisis se realizó en el paquete Sistema de Análisis Estadístico (SAS, 1987). Las concentraciones aparecen expresadas como la media  $\pm$  error estándar de la media ( $\mu \pm$  E.E.).

La interacción grupo - periodo se realizó con la finalidad de comprobar la homogeneidad de los grupos antes del tratamiento, así como para observar el efecto de los diferentes tratamientos sobre las concentraciones de  $P_4$  y ver el comportamiento de tales concentraciones después de finalizar los tratamientos. La interacción grupo - día de tratamiento se analizó para detectar posibles elevaciones de  $P_4$  debidas a los tratamientos aplicados y en qué momento se presentaban.

Cabe señalar que para realizar el ANDEVA se decidió eliminar a los animales que tenían concentraciones extremas de  $P_4$  ( $> 3.0$  y  $< 0.5$  ng/ml), con la finalidad de evitar un sesgo excesivo en los resultados. El número de animales eliminados fue de 3 en cada grupo.

Por otra parte, durante el periodo de estudio se contabilizó el número de animales que presentaron cuando menos un pico de  $P_4 > 1.0$  ng/ml. Las diferencias entre grupos fueron evaluadas por la prueba de Q de Cochran y prueba de probabilidades exactas de Fisher (Siegel, 1980).

Dado que la respuesta esperada en la concentración de  $P_4$  tiene comportamiento cíclico, se decidió utilizar complementariamente un análisis de autocorrelación, que es de utilidad en estudios cronobiológicos (Vega, 1993). Este se aplicó a los perfiles individuales de  $P_4$  mediante el paquete estadístico GB-STAT (Friedman, 1991). Con los resultados de autocorrelación se contabilizó el número de animales por grupo que mostraron perfil cíclico de esta hormona, considerando solo aquellos que mostraron coeficientes de autocorrelación iguales o mayores a 0.4 con  $p < 0.05$ , clasificándolos en dos tipos: a) regulares, aquellos con periodos de 15 a 21 días, y b) irregulares, aquellos con periodos menores de 15 o mayores de 21 días. Las diferencias en el número de animales ciclantes por grupo de tratamiento respecto al control fueron evaluadas mediante la prueba Q de Cochran y prueba de probabilidades exactas de Fisher (Siegel, 1988).



## RESULTADOS

Como puede apreciarse en la Tabla 1, antes de iniciar los tratamientos no se observaron diferencias significativas en las concentraciones de P<sub>4</sub> entre grupos. Durante los periodos de tratamiento y postratamiento las concentraciones de esta hormona fueron semejantes entre los grupos tratados y el control, a excepción del grupo MC en el que la concentración de P<sub>4</sub> en el periodo que siguió a la finalización del tratamiento fue significativamente menor que en el resto de los grupos.

Analizando individualmente los periodos de tratamiento por grupo, se pudo observar que en el grupo M no hubo un incremento significativo de P<sub>4</sub> ni durante ni después del tratamiento, lo cual lo igualó al grupo control. Mientras tanto, el grupo MC mostró un incremento significativo de P<sub>4</sub> durante el periodo de tratamiento, seguido de la reducción de las concentraciones de la hormona durante el periodo que siguió a la finalización del tratamiento. En tanto el grupo 5-MT solo mostró incremento en las concentraciones de P<sub>4</sub> en el periodo posterior al tratamiento.

**Tabla 1.**  
Concentraciones de P<sub>4</sub> durante el estudio (ng/ml)

Periodo	Cx	M	MC	5-MT
Antes del tratamiento	A 1.56 ± 0.18 a	A 1.43 ± 0.15 a	A 1.09 ± 0.13 b	A 1.38 ± 0.15 b
Durante el tratamiento	A 1.81 ± 0.08 a	A 1.69 ± 0.10 a	A 1.60 ± 0.09 a	A 1.67 ± 0.09 ab
Después del tratamiento	A 1.70 ± 0.12 a	A 1.64 ± 0.12 a	B 1.25 ± 0.12 b	A 1.86 ± 0.23 a

Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (p < 0.05)

Letras mayúsculas indican las diferencias en forma horizontal y letras minúsculas indican las diferencias en forma vertical.

Por otra parte, como puede observarse en la Figura 7, el tratamiento con melatonina indujo, con respecto al grupo control, un 57 % más de animales con al menos un pico de  $P_4$  mayor a 1.0 ng/ml ( $p < 0.05$ ). Mientras tanto, el tratamiento con los análogos no incrementó en forma significativa el porcentaje de animales con estos picos (MC 29 % y 5-MT 14 %).

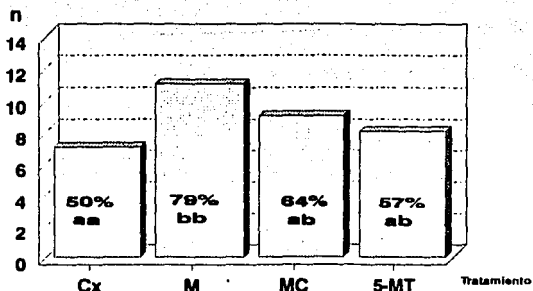
En el día 4 de tratamiento, se presentaron picos de  $P_4$  en todos los grupos. La concentración de  $P_4$  en ese día, en el grupo tratado con melatonina fue la mayor ( $3.46 \pm 0.56$  ng/ml), aunque solo fue estadísticamente diferente ( $p < 0.05$ ) al grupo tratado con 5-metoxitriptamina ( $2.05 \pm 0.33$  ng/ml). En tanto, la concentración de  $P_4$  en ese día para el grupo tratado con MC y el grupo control fue de  $2.62 \pm 0.44$  y  $2.54 \pm 0.43$  ng/ml, respectivamente (Figura 8).

Con base en los resultados obtenidos del análisis de autocorrelación, el número de animales en los que el perfil de  $P_4$  presentó ciclos, independientemente de su periodo fue similar entre grupos (Figura 9).

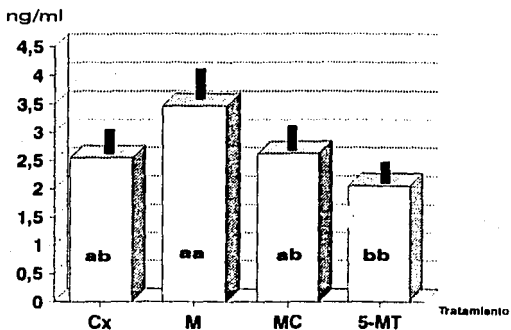
Respecto al número de animales que presentaron perfil cíclico regular de  $P_4$ , en el grupo M se presentaron solamente 3 animales, en tanto que en el grupo control se presentó uno y en los grupos tratados con los análogos de melatonina ninguno. La diferencia entre los grupos M y Cx solo alcanzó una  $p < 0.1$  (Figura 10).

Respecto a los animales con perfil cíclico irregular de  $P_4$ , el comportamiento por grupo fue el siguiente: 1) Cx: 1 animal con ciclo de 6 días; 2) M: no hubo animales con ciclo irregular; 3) MC, 1 animal con ciclos de 6 días y 1 con ciclos de 12 días y 1 con ciclo de 24 días; y 4) 5MT, 1 animal con ciclo de 9 días y 1 con ciclo de 27 días.

En las figuras 11 a 14 se muestran los perfiles individuales de  $P_4$  así como los autocorrelogramas de los animales de cada grupo que presentaron perfil cíclico.



**Figura 7. Animales con por lo menos un pico de P4 > 1.0 ng/ml**  
 Literales diferentes indican diferencia significativa  $p < 0.05$



**Figura 8. Concentraciones de P4 en el día 4 de tratamiento.**  
 Literales diferentes indican diferencia significativa  $p < 0.05$

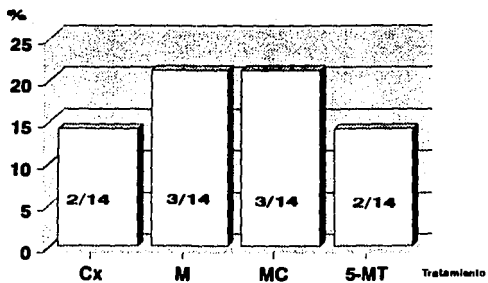


Figura 9. Animales con perfil cíclico de P4

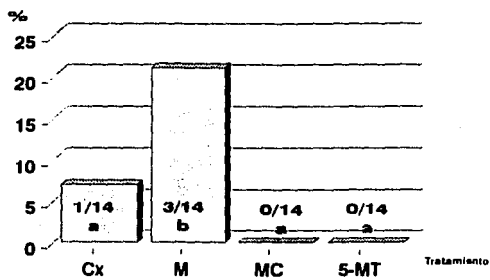


Figura 10. Animales con perfil cíclico regular de P4

Letras diferentes indican diferencia significativa  $p < 0.1$

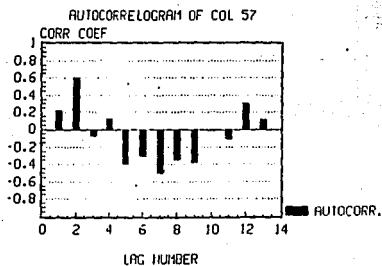
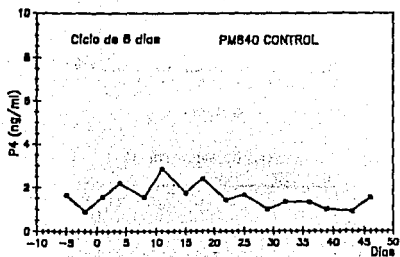
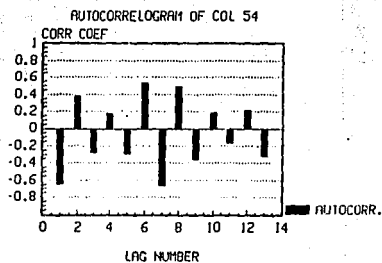
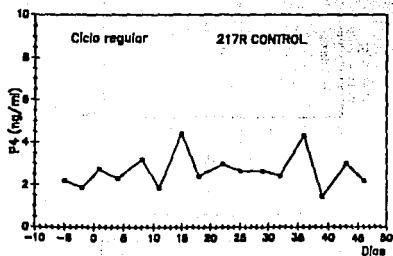


Figura 11. Ovejas con perfil cíclico de P<sub>4</sub> en el grupo Cx.

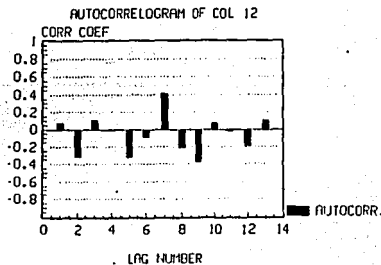
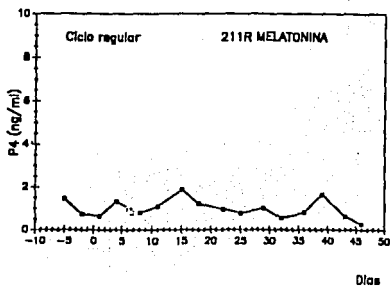
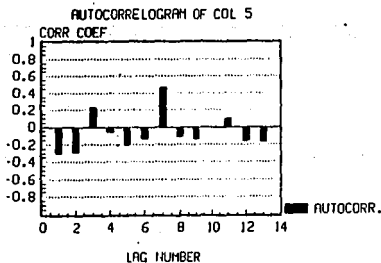
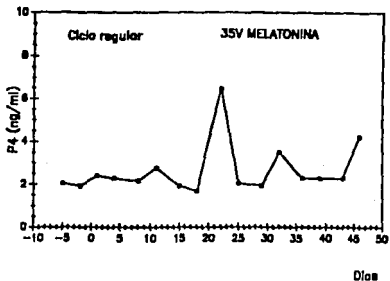
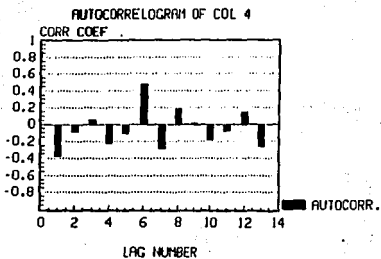
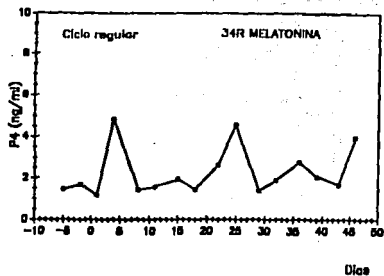


Figura 12. Ovejas con perfil cíclico de  $P_4$  en el grupo M.

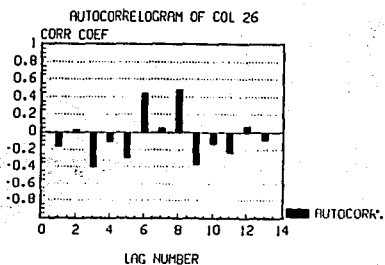
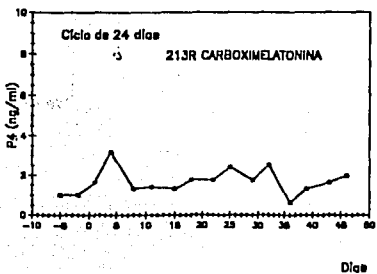
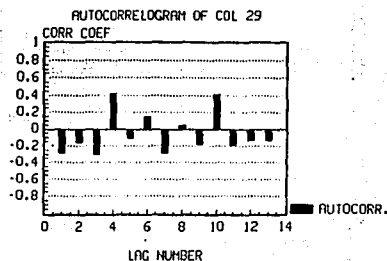
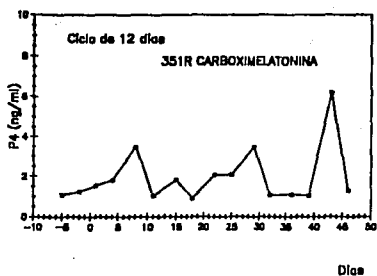
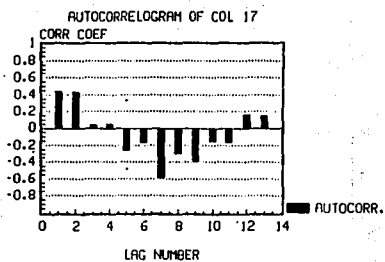
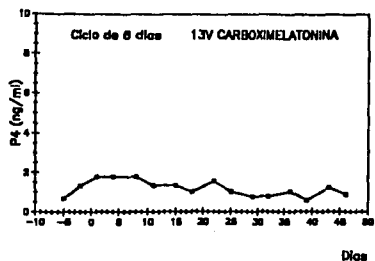


Figura 13. Ovejas con perfil cíclico de  $P_4$  en el grupo MC.

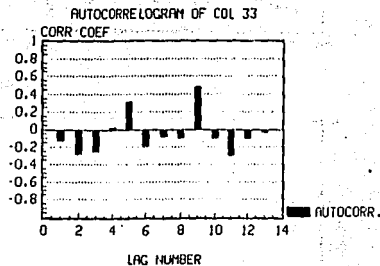
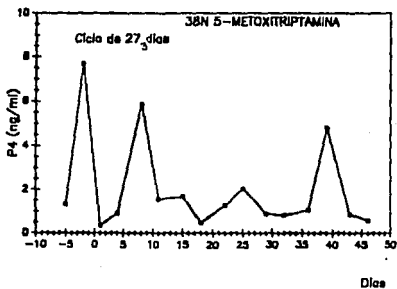
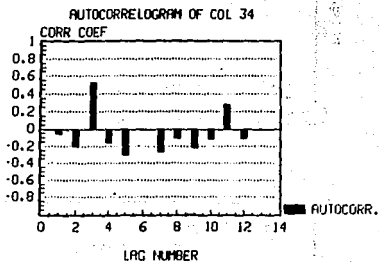
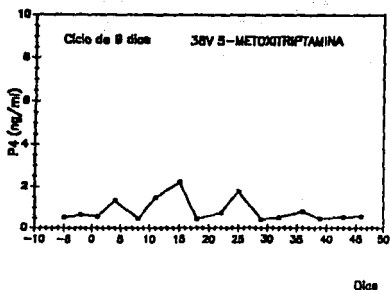


Figura 14. Ovejas con perfil cíclico de  $P_4$  en el grupo 5-MT.



## DISCUSIÓN

Hasta donde se sabe, el presente estudio es uno de los primeros en usar melatonina en latitudes bajas en ovejas. Además, es el primero en valorar análogos de melatonina como progonadotrópicos también en ovejas y particularmente el primero en valorar la actividad biológica de la melatonina carboxilada.

Los resultados del este trabajo no mostraron efecto de la melatonina sobre las concentraciones de P<sub>4</sub> en los animales tratados, ni sobre la cantidad de animales con perfil cíclico de esta hormona. Sin embargo, su efecto progonadotrópico se hizo evidente en la inducción de un 57 % más de animales con picos de P<sub>4</sub> > 1.0 ng/ml que en el grupo Cx y en la elevación significativa de las concentraciones de P<sub>4</sub> en el día 4 de tratamiento respecto al grupo 5-MT.

Desde hace algunos años se ha reconocido la capacidad de la melatonina para inducir actividad sexual en ovejas durante el anestro o bien para adelantar la presentación del primer estro en animales prepúberes, debido a que ésta puede imitar los efectos inductivos de un acortamiento del fotoperiodo. La mayoría de los trabajos se han realizado con razas marcadamente estacionales, en latitudes altas (30 a 60 °) y por periodos de tratamiento que van de las 9 a las 22 semanas (Kennaway *et. al.*, 1982; Kennaway *et. al.*, 1982-83; Luhman and Slyter, 1986; Poulton *et. al.*, 1987; Tamanini *et. al.*, 1987; Stellflug *et. al.*, 1988b; Stellflug and Nett, 1988; Waller *et. al.*, 1988; Nowak *et. al.*, 1990b). Los resultados en algunos casos, no muestran avances significativos desde el punto de vista productivo, siendo el adelanto del primer estro o en la época de actividad reproductiva tan solo de 7 a 9 días (Moore *et. al.*, 1985-86; Luhman and Slyter, 1986; Prandi *et. al.*, 1987). En tanto, en otros trabajos se han logrado adelantos que van de los 30 a los 170 días, bajo los mismos esquemas de tratamiento (Tamanini *et. al.*, 1987; Wallace *et. al.*, 1988; Nowak *et. al.*, 1990b).

Dentro de los escasos estudios realizados en latitudes bajas se encuentran el de Márquez y colaboradores (1985), Contestabile y colaboradores (1985) y De Lucas y García (1991), todos en territorio mexicano a 19° de latitud norte y utilizando dosis de 3 mg de melatonina. Márquez y colaboradores (1985) lograron inducir actividad estral en el 85 % de las ovejas Corriedale tratadas durante 87 días con melatonina, en comparación a la nula presentación de celos en el grupo control, con un periodo de respuesta de  $59 \pm 21$  días después de iniciado el tratamiento. De Lucas y García (1991), al trabajar con ovejas Rambouillet, indujeron mayor porcentaje de animales en estro con la administración de melatonina en relación al grupo control (72 y 36 % respectivamente), aunque el periodo de reacción en los animales no fue diferente entre grupos (36 y 38.6 días respectivamente). Contestabile y colaboradores (1985) lograron un porcentaje mayor de cabras en celo en el el grupo tratado con melatonina que en el grupo control (92 y 54 % respectivamente), a los  $33 \pm 8$  días de iniciado el tratamiento. Los resultados del presente trabajo inherentes a la inducción de picos de P<sub>4</sub> en los animales tratados con melatonina concuerdan parcialmente con los de estos estudios en cuanto al efecto progonadotrópico, aún cuando el parámetro utilizado para medirlo sea diferente.

Respecto al uso de análogos de melatonina se mencionó en el capítulo 6 que es relativamente reciente y el número de los estudios dedicados a ello son escasos, y más aún si se consideran solo aquellos dedicados a probar su efecto sobre el sistema reproductivo de los mamíferos. Por otra parte, prácticamente no hay estudios tendientes a evaluar a los análogos de melatonina como progonadotrópicos, ya que todos los estudios han sido realizados en roedores (reproductores de días largos), en los cuales su efecto es antigonadotrópico. Es decir, hasta este momento no se había intentado probar su efecto en otros mamíferos como las ovejas, objeto de estudio del presente trabajo.

Respecto al análisis del comportamiento de las concentraciones de  $P_4$  dentro de un mismo grupo de tratamiento, la MC logró inducir un efecto a corto plazo, es decir, solamente durante el periodo de tratamiento se elevaron las concentraciones de la hormona. La 5-MT provocó un incremento en las concentraciones de  $P_4$  solo durante el periodo que siguió a la finalización del tratamiento (acción a largo plazo). Sin embargo, este comportamiento no puede considerarse significativo, pues las elevaciones de la hormona en ningún momento fueron mayores a las del grupo control, aunque quizá podrían estar indicando cierta tendencia progonadotrópica de los análogos. Por otra parte, la MC y la 5-MT no indujeron picos de  $P_4$  ni perfil cíclico de esta hormona.

Los resultados obtenidos por la administración de 5-MT son difícilmente comparables con los de la literatura, pues los escasos estudios han sido realizados en reproductores de días largos (Pévet *et. al.*, 1981; Rollag, 1982; Vaughan *et. al.*, 1984). En cuanto a los resultados obtenidos por la administración de MC no se encontró información sobre el uso de este compuesto en alguna especie animal.

Respecto a la presentación de ciclos irregulares de  $P_4$  en los animales de los grupos MC y 5-MT (periodos menores de 15 y mayores de 21 días), una posible explicación podría ser el hecho de que estos compuestos esten ejerciendo un efecto directo sobre las células ováricas en las ovejas para secretar  $P_4$ . Baratta y Tamanini (1992), trabajaron con cultivos de células ováricas a los cuales les agregaron melatonina o melatonina + LH. Así, con estos dos tratamientos lograron incrementar significativamente la secreción de  $P_4$ . Sin embargo, la respuesta más marcada, la obtuvieron cuando la melatonina la administraron junto con LH. De esa forma concluyeron que la melatonina ejerce un efecto directo sobre las células de la granulosa para estimular la secreción de  $P_4$  y que existe además una actividad sinérgica entre la melatonina y la LH para provocar dicho efecto. Los análogos empleados en el presente trabajo posiblemente utilicen un mecanismo de acción

similar.

Los resultados del presente estudio muestran que la dosis utilizada de melatonina (2 mg/animal/día), fue insuficiente para lograr plenamente el efecto esperado en todos los animales. La dosis se decidió en función tanto de la cantidad de cada análogo con que se contaba para realizar el experimento como con las dosis utilizadas por otros autores en trabajos semejantes. Sin embargo, es una de las más bajas comunicadas por la literatura (Kennaway and col, 1982; Chemineau *et. al.*, 1986; Amir and col, 1987; Stellflug *et. al.*, 1988 a y b; y Waller *et. al.*, 1988). La dosis en cuestión ha sido utilizada en animales que habitan en regiones ubicadas a mayores latitudes (de 30° a 50° de latitud norte) con animales muy sensibles al fotoperiodo. Por lo tanto, es posible que los animales que habitan en regiones cercanas al ecuador, como México (19° de latitud norte para el presente trabajo), sean menos sensibles a la melatonina dado que las variaciones en el periodo luz-obscuridad en estas latitudes son menos marcadas. Además, posiblemente también tuvo que ver que la mayor parte de las ovejas utilizadas en el presente experimento eran de raza Rambouillet, las cuales en las condiciones de México muestran poca asociación entre su actividad reproductiva y los cambios en el fotoperiodo (De Lucas *et. al.*, 1983).

El presente estudio puede considerarse novedoso porque hasta el momento no se habían probado análogos de melatonina en reproductores de días cortos. Además porque uno de los análogos probados, la MC, no ha sido utilizada en otros trabajos. Particularmente para el caso de las ovejas resulta importante trabajar con estas sustancias, ya que dado el efecto progonadotrópico de la melatonina y el posible efecto semejante de algunos de sus análogos, puede significar una importante forma de incrementar el número de partos por año. Inclusive si se piensa que se podrían encontrar análogos de melatonina que requieran menor dosis efectiva y que pudieran resultar más baratos.

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Bajo las condiciones del presente trabajo, se puede concluir que la M no tuvo efecto sobre las concentraciones de  $P_4$  ni indujo perfil cíclico de esta hormona en forma notoria. Su efecto progonadotrópico solo se hizo evidente en el hecho de inducir un 57% más de animales con por lo menos un pico de  $P_4 > 1.0$  ng/ml, respecto al grupo Cx. Por lo tanto, tanto la dosis empleada de melatonina (2 mg/animal/día = 8.62  $\mu$ m) como el período de duración del tratamiento (30 días) resultaron insuficientes para lograr la expresión completa de su actividad progonadotrópica. Por otra parte la 5-MT y la MC no fueron efectivas a dosis equimolares (8.62  $\mu$ m) en incrementar el número de animales con picos de  $P_4$ , ni en inducir perfil cíclico de  $P_4$  en los animales tratados. Solo hubo cierta tendencia a actividad progonadotrópica, aunque no concluyente, reflejada tanto en el incremento de la concentración de  $P_4$  a corto plazo para el caso de la MC (durante el tratamiento) y a largo plazo para el caso de la 5-MT (durante el período posterior a la finalización del tratamiento); como en la inducción de perfiles cíclicos irregulares de  $P_4$  en algunos animales tratados.

Con base en los resultados del trabajo se indican las siguientes recomendaciones:

- 1) Determinar la dosis efectiva ideal de la melatonina en ovejas para las condiciones de México.
- 2) Probar los diferentes análogos de melatonina de interés en tal especie, considerando la dosis ideal de melatonina (dosis equimolares).
- 3) Evaluar si los análogos ejercen algún efecto, ya sea positivo o negativo, sobre la fertilidad y prolificidad.
- 4) Evaluar la reutilización del tratamiento con estas sustancias en los rebaños nacionales

## LITERATURA CITADA

Almeida O.F.X. and Lincoln G.A. (1982): Photoperiodic regulation of reproductive activity in the ram: evidence for the involvement of circadian rhythms in melatonin and prolactin secretion. Biol. Reprod. 27: 1062-1075.

Almeida O.F.X. and Lincoln G.A. (1984): Reproductive photorefractoriness in rams and accompanying changes in the patterns of melatonin and prolactin secretion. Biol. Reprod. 30: 143-158.

Amir D., Thimonier J. and Gacitua H. (1987): The effect of a light pulse and melatonin, alone or in combination, on the reproductive performance of Finn-cross ewes in spring in Israel. J. Agric. Sci. Camb. 109:273-279.

Baratta M. and Tamanini C.(1992): Effect of melatonin on the *in vitro* secretion of progesterone and estradiol 17  $\beta$  by ovine granulosa cells. Acta Endocrinologica. 127: 366-370.

Bargmann W. (1943): Die epiphyse cerebri. In: Handbuch der mikroskopischen anatomie des menschen, edited by W. von Mollendorff. Berlin: Springer-Verlag. Vol. 4. pp. 309-502. Citado por Reiter y Vaughan, 1988.

Beaty T. and Williams H. L. (1971a): The reproductive performance of british breeds of sheep in an equatorial enviroment. I. Mountain Breeds. Br. Vet. J. 127(1): 1-9.

Beaty T. and Williams H. L. (1971b): The reproductive performance of british breeds of sheep in an equatorial enviroment. II. Lowland Breeds. Br. Vet. J. 127(1): 10-19.

Bittman E.L., Karsch F.J. and Hopkins J.W. (1983a): Role of the pineal gland in ovine photoperiodism: regulation of seasonal breeding and negative feedback effects of estradiol upon luteinizing hormone secretion. Endocr. 113(1): 329-336.

Bittman E.L., Dempsey R.J. and Karsch F.J. (1983b): Pineal melatonin secretion drives the reproductive response to daylength in the ewe. Endocr. 113(6): 2276-2283.

Bittman E.L. and Karsch F.J. (1984): Nightly duration of pineal melatonin secretion determines the reproductive response to inhibitory day length in the ewe. Biol. Reprod. 30: 585-593.

Bittman E.L., Kaynard A.H., Olster D.H., Robinson J.E., Yellon S.M. and Karsch F.J. (1985): Pineal melatonin mediates photoperiodic control of pulsatile luteinizing hormone secretion in the ewe. Neuroendocr. 40(5): 409-418.

Brown F.A. (1962): Extrinsic rhythmicity: a reference frame for biological rhythms under so called constant conditions. Ann. N.Y. Acad. Sci. 98: 775-787. Citado por Pijoan y Williams, 1983.

Cardinali D.P., Vacas M.I., Lowenstein P.R. y Estévez E. (1979): Control neurohormonal de la glándula pineal. Un modelo para el estudio de procesos integrativos neuroendócrinos. Acta Physiol. Latinoam. 29: 291-304.

Chemineau P., Normant E., Ravault J.P. and Thimonier J. (1986): Induction and persistence of pituitary and ovarian activity in the out-of-season lactating dairy goat after a treatment combining a skeleton photoperiod, melatonin and the male effect. J. Reprod. Fert. 78:497-504.

Chemineau P., Martin G.B., Saumande J. and Normant E. (1988): Seasonal and hormonal control of pulsatile LH secretion in the dairy goat (*Capra hircus*). J. Reprod. Fert. 83: 91-98.

Collin J.P. (1971). Ciba Fdn. Symp. 79-120. Citado por Seem y colaboradores, 1980.

Contestabile O.I., Sandoval V.A., Pérez D.E. y Pijoan A.P. (1985): Efecto de la administración oral de melatonina como inductor del estro en cabras durante el anestro estacional. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México. INIFAP. México, D.F. pp. 223.

Contreras X.C., Ortega R.B., Romero B.J.O. y Pérez D.E. (1989): Anestro postparto en ovejas Rambouillet sometidas a tres métodos de cría de corderos en dos épocas de empadre. Memorias del II Congreso Nacional de Producción Ovina. AMTEO. San Luis Potosí, S.L.P. 195-197.

De Lucas T.J., González P.E. y Martínez R.L. (1983): Estacionalidad reproductiva de cinco razas ovinas. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México. INIP. 119-123.

De Lucas T.J., García A. A. (1991): Inducción de la pubertad en corderas de la raza Rambouillet empleando melatonina. Memorias del IV Congreso Nacional de Producción Ovina. AMTEO. San Cristobal de las Casas, Chiapas. 166-168.

Derivaux J. (1976): Reproducción de los animales domésticos. Acribia. España.

Ducker M.J., Thwaites C.J. and Bowman J.C. (1970a): Photoperiodism in the ewe. 1. The effect of long supplemented daylengths on the breeding activity of pregnant and non-pregnant Teeswater-Clun ewes. Anim. Prod. 12:107-113.

Ducker M.J., Thwaites C.J. and Bowman J.C. (1970b): Photoperiodism in the ewe. 2. The effect of various patterns of decreasing daylength on the onset of oestrus in Clun Forest ewes. Anim. Prod. 12:115-123.

Ducker M.J., and Bowman J.C. (1970a): Photoperiodism in the ewe. 3. The effect of various patterns of increasing daylength on the onset of anoestrus in Clun Forest ewes. Anim. Prod. 12:465-471.

Ducker M.J., and Bowman J.C. (1970b): Photoperiodism in the ewe. 4. A note on the effect on onset of oestrus in Clun Forest ewes of applying the same decrease in daylength at two different times of the year. Anim. Prod. 12:513-516.

Eakin R.M. (1973): The third eye. University of California Press, Berkeley. Citado por Ralph, 1975.

Ebling F.J.P., Claypool L.E. and Foster D.L. (1988): Neuroendocrine responsiveness to light during the neonatal period in the sheep. J. Endocr. 119: 211-218.

Elliot J.A. and Goldman B.D. (1982): Photoperiodism and Biological Clocks. De: The clocks that time US. Physiology of the Circadian Timing System. A Commonwealth Fund Book. USA.

Evans G. and Maxwell W.M.C. (1987): Physiology of Reproduction in ewes and does. Cap. 6 del libro: Salamon's Artificial Insemination of sheep and goats. Butterworths. Australia.

Fitzgerald J.A. and Stellflug J.N. (1991): Effects of melatonin on seasonal changes in reproduction of rams. J. Anim. Sci. 69:264-275.

Folk G.E. Jr. (1974): Influence of visible light radiations. De su libro: Textbook of environmental physiology, 2th ed. Lea and Febiger. U.S.A.

Forsberg M. and Madej A. (1990): Effects of melatonin implants on plasma concentrations of testosterone, thyroxine and prolactin in the male silver fox (*Vulpes vulpes*). J. Reprod. Fert. 89:351-358.

Foster D.L. (1988): Puberty in the female sheep. Del libro The physiology of reproduction. Chapter 40. Editado por Knobil E. y Neill J.D. Raven Press. U.S.A

Friedman, P. (1991): GB-STAT Version 3.0. Computer Aided Statistics and Graphics Tutorial/Manual. U.S.A.



Gómez B.A., López S.A., Cabellos B. y Picazo R.A. (1993): Secreción de LH en ovejas tratadas con melatonina e inducidas a ovular mediante estradiol y efecto macho. Memorias de la V Jornada sobre producción animal. Vol. extra No. 12. Tomo II. Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario. Zaragoza, España, pp. 337-339.

Guerin M.V., Watson R., McLoughney J, Earle C., Seamark R.F. and Matthews C.D. (1989): The annual patterns of serum melatonin in Romney-Marsh sheep held in natural photoperiodic conditions. Advances in Pineal Research. 3: 137-141.

Gundy G.C., Ralph C.L. and Wurst G.Z. (1975): Parietal eyes in lizards: zoogeographical correlates. Science. 190: 671-673. Citado por Ralph, 1975.

Hafez E.S.E. (1952): Studies on the breeding season and reproduction of the ewe. J. Agric. Sci. Camb. 42: 189-265. Citado por: Radford, 1961; Williams y Jackson, 1971; Williams, 1974; Pijoan y Williams, 1983; De Lucas y colaboradores, 1983; y Pijoan, 1984.

Haresign W., Peters A.R. and Staples L.D. (1990): The effect of melatonin implants on breeding activity and litter size in commercial sheep flocks in the UK. Anim. Prod. 50: 111-121.

Haresign W. (1992 a): The effect of implantation of lowland ewes with melatonin on the time of mating and reproductive performance. Anim. Prod. 54:31-39.

Haresign W. (1992 b): Responses of ewes to melatonin implants: importance of the interval between treatment and ram introduction on the synchrony of mating, and effects on ovulation rate. Anim. Prod. 54:41-45.

Harker J.E.(1964): The physiology of diurnal rhythms. Cambridge at the university press. Great Britain.

Herrera D.M.R., Luna M.M. y Romero R.C.M.(1993): Obtención de anticuerpos contra progesterona y estradiol y estandarización del radioinmunoanálisis y validación en suero de rumiantes. Vet. Méx. 24 (3): 223-229.

Hoffman K. (1981): Handbook of Behavioural Neurobiology. J. Aschoff. Ed. (Plenum, New York). Vol. 4, pp. 449-473. Citado por Tamarkin y colaboradores, 1985.

Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (1987): Síntesis geográfica del Estado de México. pp. 11 y 188.

Jackson G.L. Leshin L.S. and Schillo K.K. (1986): Effect of frontal hypothalamic deafferentation on duration of breeding season and melatonin secretion in the ewe. Biol. Reprod. 35: 1277-1288.

Jackson G.L., Hansen H. and Kao C. (1990): Continuous exposure of Suffolk ewes to an equatorial photoperiod disrupts expression of the annual breeding season. Biol. Reprod. **42**: 63-73.

Karsch F.J., Bittman E.L., Foster D.L., Goodman R.L., Legan S.J. and Robinson J.E. (1984): Neuroendocrine Basis of Seasonal Reproduction. Rec. Prog. in Horm. Res. **40**: 185-232.

Kennaway D.J., Obst J.M., Dunstan E.A. and Friesen H.G. (1981): Ultradian and seasonal rhythms in plasma gonadotropins, prolactin, cortisol and testosterone in pinealectomized rams. Endocr. **108**(2): 639-646.

Kennaway D.J., Gilmore T.A. and Seamark R.F. (1982): Effect of Melatonin feeding on serum prolactin and gonadotropin levels and the onset of seasonal estrous cyclicity in sheep. Endocr. **110**(5):1766-1772.

Kennaway D.J., Dunstan E.A., Gilmore T.A. and Seamark R.F. (1982/83): Effects of shortened daylength and melatonin treatment on plasma prolactin and melatonin levels in pinealectomised and sham-operated ewes. Anim. Reprod. Sci. **5**:287-294.

Kwok-Yuen F.P., Kyehl D.E. and Jackson G.L. (1982): Effect of frontal Hypothalamic deafferentation on luteinizing hormone secretion and seasonal breeding ewe. Biol. Reprod. **27**: 999-1009.

Lee J.M., Stormshak F., Thompson J.M., Thinesen P., Painter L.J. Olenchek E.G., Hess D.L., Forbes R. and Foster D.L. (1993): Melatonin secretion and puberty in female lambs exposed to environmental electric and magnetic fields. Biol. Reprod. **49**: 857-864.

Legan S.J. and Winans S.S. (1981): The Photoneuroendocrine Control of Seasonal Breeding in the Ewe. Gen. Comp. Endoc. **45**: 317-328.

Lewy A., Werh T., Goldwin F., Newsom D., Markey S. (1980): Light suppresses melatonin in humans. Science. **210**: 1267 - 1269.

Lincoln G.A. (1976): Secretion of LH in rams exposed to two different photoperiods. J. Reprod. Fert. **47**: 351-353.

Lincoln G.A. and Davidson W. (1977): The relationship between sexual and aggressive behaviour, and pituitary and testicular activity during the seasonal sexual cycle of rams; and the influence of photoperiod. J. Reprod. Fert. **49**: 267-276.

Lincoln G.A., Peet M.J. and Cunningham R.A. (1977): Seasonal and circadian changes in the episodic release of follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone and testosterone in rams exposed to artificial photoperiods. J. Endocr. **72**: 337-349.

Lincoln G.A. (1979): Light-Induced rhythms of prolactin secretion in the Ram and the effect of cranial Sympathectomy. Acta Endoc. **91**: 421-427.

Lincoln G.A. and Almeida O.F.X. (1982): Inhibition of reproduction in rams by long daylengths and the acute effect of superior cervical gangliectomy. J. Reprod. Fert. **66**: 417-423.

Lincoln G.A., Almeida O.F.X., Klandorf H. and Cunningham R.A. (1982): Hourly fluctuations in the blood levels of melatonin, prolactin, luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, testosterone, tri-iodotironine, thyroxine and cortisol in rams under artificial photoperiods, and the effect of cranial sympathectomy. J. Endocr. **92**: 237-250.

Lincoln G.A. (1984): Central effects of photoperiod on reproduction in the ram revealed by the use of a testosterone clamp. J. Endocr. **103**: 233-241.

Lincoln G.A., Fraser H.M. and Fletcher T.J. (1984): Induction of early rutting in male red deer (*Cervus elaphus*) by melatonin and its dependence on LHRH. J. Reprod. Fert. **72**:339-343.

Lincoln G.A. and McNeilly A.S. (1989): Inhibin concentrations in the peripheral blood of rams during a cycle in testic activity induced by changes in photoperiod or treatment with melatonin. J. Endocr. **120**:R9-R13.

Lindsay D.R., Pelletier J., Pisselet C. and Courot M. (1984): Changes in photoperiod and nutrition and their effect on testicular growth of rams. J. Reprod. Fert. **71**: 351-356.

Lindsay D.R. (1991): Reproduction in sheep and goat. Cap. 15 del Libro: Reproduction in domestic animals. 4a. ed. Academic Press Inc. U.S.A.

Little J.C., Vaughan M.K., Haider N., Smith I. and Reiter R.J. (1986): Effects of afternoon injections of O-acetyl-5-methoxytryptophol, melatonin or 5-methoxytryptophol in female syrian hamsters. J. Neural Transm. **66**: 291-301.

López S.A. and Inskeep E.K. (1991): Response of ewes of Mediterranean sheep breeds to subcutaneous implants of melatonin. Liv. Prod. Sci. **27**:177-184.

Luhman C.M. and Slyter A.L. (1986): The effect of photoperiod and melatonin feeding on reproduction in the ewe. Theriogenology **26**(6):721-732.

Malpaux B., Robinson J.E., Brown M.B. and Karsch F.J. (1987): Reproductive refractoriness of the ewe to inductive photoperiod is not caused by inappropriate secretion of melatonin. Biol. Reprod. **36**: 1333-1341.

Malpaux B., Robinson J.E., Brown M.B. and Karsch F.J. (1988a): Importance of changing photoperiod and melatonin secretory pattern in determining the length of the breeding season in the Suffolk ewes. J. Reprod. Fert. **83**: 461-470.

Malpaux B., Moenter S.M., Wayne N.L., Woodfill C.J.I. and Karsch F.J. (1988b): Reproductive refractoriness of the ewe to inhibitory photoperiod is not caused by alteration of the Circadian Secretion of Melatonin. Neuroendocr. **48**: 264-270.

Márquez B.G.A., Pineda F.M.P., Cardoso A.V.M., De Lucas T.J. y Pijoan A.P. (1985): Inducción de la actividad sexual en ovejas Corriedale mediante administración de melatonina y la variación del fotoperiodo. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México. INIFAP. México, D.F. pp.210

Marshall F.H.A. (1937). Proc. R. Soc. Lond. Ser. B. **122**: 413-428. Citado por Pijoan, 1984.

Maxwell C.A., Rintoul A.J., Foldes A., Downing J.A., Scaramuzzi R.J. and Carter N.B. (1989): Seasonal modification of ovine pineal function. 2. Steroidal effects on melatonin and prolactin profiles. Neuroendocr. **50**: 274-279.

McDonald L.E.(1975): Veterinary endocrinology and reproduction, 2nd. ed. Lea and Febiger. USA. pp. 247-303.

Menaker M. and Eskin A. (1968): Biological Rhythms. Del: Adaptation of domestic animals. Hafez E. S.E. Lea and Febiger. U.S.A.

Milne J.A., Loudon A.S.I., Sibbald A.M., Curlewis J.D. and McNeilly A.S. (1990): Effect of melatonin and a dopamine agonist and antagonist on seasonal changes in voluntary intake, reproductive activity and plasma concentrations of prolactin and triiodothyronine in red deer hinds. J. Endocr. **125**:241-249.

Moore R.Y., Heller A., Wurtman R.J. and Axerold J. (1967). Science. **155**: 220-223. Citado por Seem y colaboradores, 1980.

Moore R.W., Lynch P.R., Miller C.M. and Smart S. (1985-86): The effect of melatonin implants on the onset of oestrus in Romney ewe lambs. Agr. Res. Div. MAE. Annual Report.

Norman A.W. and Litwack G. (1987): Hormones. Academic Press. U.S.A.

Nowak R., Young I.R. and McMillen I.C. (1990a): Emergence of the diurnal rhythm in plasma melatonin concentrations in newborn lambs delivered to intact or pinealectomized ewes. J. Endocr. 125: 97-102.

Nowak R., Rajkumar R.R., Webley G.E. and Rodway R.G. (1990b): Effect of prolonged exposure to exogenous melatonin on the onset and end of the breeding season and on the growth rate of ewe lambs. Br. Vet. J. 146:17-23.

Pévet P., Haldar-Misra C. and Ócal T. (1981): Effect of 5-Methoxytryptophan y 5-Methoxytryptamine on the reproductive system of the male Golden Hamster. J. Neural Transmission. 51: 303-311.

Pijoan A.P.J. y Williams H.LI. (1983): El efecto del fotoperiodo en la estación reproductiva y la actividad ovárica en ovejas Dorset Horn y North Country Cheviot. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México. INIP. 130-134.

Pijoan A.P.J. (1984): Factores ambientales y endócrinos que afectan el anestro estacional en los ovinos. Memorias del curso "Bases de la cría ovina". Toluca, México.59-66.

Poultou A.L., English J., Symons A.M. and Arendt J. (1987): Changes in plasma concentrations of LH, FSH and prolactin in ewes receiving melatonin and short-photoperiod treatments to induce early onset of breeding activity. J. Endocr. 112:103-111.

Prandi A., Romagnoli G., Chiesa F. and Tamanini C. (1987): Plasma prolactin variations and onset of ovarian activity in lactating anestrus goats given melatonin. Anim. Reprod. Sci. 13: 291-297.

Przekop F. and Domanski E. (1980): Abnormalities in the seasonal course of oestrus cycles in ewes after lesions of the suprachiasmatic area of the hipotalamus. J. Endocr. 85: 481-486.

Radford H.M. (1961a): Photoperiodism and sexual activity in Merino ewes. I.The effect of continuous light on the development of sexual activity. Aust. J. Agr. Res. 12:139-146.

Radford H.M. (1961b): Photoperiodism and sexual activity in Merino ewes. II.The effect of equinoctial light on sexual activity. Aust. J. Agr. Res. 12:147-153.

Ralph C.L. (1975): The pineal gland and geographical distribution of animals. Int. J. Biometeor. 19(4):289-303.

Reiter R.J. (1975): The pineal gland and seasonal reproductive adjustments. Int. J. Biometeor. 19(4):282-288.

Reiter R. and Vaughan M.K. (1988): Pineal Gland. Cap. IX del libro: Endocrinology, people and ideas. Editado por McCann S.M. American Physiological Society. Maryland.

Rekik M., Bryant M.J. and Cunningham F.J. (1991): Effects of treatment with melatonin on the response of seasonally anovular ewes to the introduction of rams. Anim. Prod. 53: 203-207.

Richardson B.A., Vaughan M.K., Petterborg L.J., Johnson L.Y., King T.S., Smith I., and Reiter R.J. (1983): Natural and synthetic analogues of melatonin and related compounds. I. Effects on the reproductive system of the male syrian hamster. J. Neural Transm. 56: 187-197.

Robinson J.E. and Karsch F.J. (1987): Photoperiodic history and a changing melatonin pattern can determine the neuroendocrine response of the ewe to daylength. J. Reprod. Fert. 80: 159-165.

Rollag M.D. and Niswender G.D. (1976): Radioimmunoassay of serum concentrations of melatonin in sheep exposed to different lighting regimens. Endocr. 98(2): 482-489.

Rollag M.D., Morgan R.J. and Niswender G.D. (1978): Route of melatonin secretion in sheep. Endocr. 102(1):1-8.

Rollag M.D. (1982): Ability of tryptophan derivates to mimic melatonin's action upon the syrian hamster reproductive system. Life Sci. 31: 2699-2707.

SAS (1987): SAS User Guide. Statistical Analysis System. Institute Inc., Cary, North Carolina.

Seem V., Schneider T. and Vollrath L. (1980): Effects of an Earth-strenght magnetic field on electrical activity of pineal cells. Macmillan Journals Ltd.

Siegel, S.(1988): Estadística no paramétrica aplicada a las ciencias de la conducta. Trillas. México.

Sisson S. y Grossman J.D. (1982): Anatomía de los Animales Domésticos. Tomo I. 5a. edición. Salvat. México.

Stellflug J.N. and Nett T.M. (1988): Influence of exogenous melatonin and altered day length on reproductive performance of Polypay ewes. Theriogenology. 29(2):535-543.

Stellflug J.N., Fitzgerald J.A., Parker C.F. and Bolt D. (1988a): Influence of concentration, duration and route of administration of melatonin on reproductive performance of spring-mated Polypay and Polypay-cross ewes. J. Anim. Sci. 66:1855-1863.

Stellflug J.N., Nett T.M. and Parker C.F. (1988b): Melatonin advances June breeding and fall lambing in range and farm-flock type ewes. Theriogenology. 29(3):643-655.

Stetson M.H. and Watson W.M. (1976): Nucleus Suprachiasmaticus: The Biological Clock in the Hamster?. Science. 191: 197-199.

Tamanini C., Prandi A., Biacchessi D. and De Rensis F. (1987): Effects of melatonin treatment on the onset of ovarian activity, reproductive parameters and PRL plasma levels of immature ewes. Anim. Reprod. Sci. 13:283-290.

Tamarkin L., Baird C.J. and Almeida O.F.X. (1985): Melatonin: A coordinating signal for mammalian reproduction?. Science. 227:714-720.

Terrill C.E. (1974): Sheep. En cap. 14 del libro: Reproduction in farm animals. 3th ed. Editado por Hafez E.S.E. Lea and Febiger. Philadelphia.

Turek F.W. (1985): Circadian neural rhythms in mammals. Ann. Rev. Physiol. 47: 49-64.

Vanderwolf C.H. and Cooley R.K. (1990): The sheep brain: a photographic series. 2th. ed. A.J. Kirby Co. Canada.

Vaughan M.K., Richardson B.A., Johnson L.Y., Petterborg L.J., Powanda M.C., Reiter R.J., and Smith I. (1983): Natural and synthetic analogues of melatonin and related compounds. II. Effects on plasma thyroid hormones and cholesterol levels in male syrian hamsters. J. Neural Transmission. 56: 279-291.

Vaughan M.K., Richardson B.A., Petterborg L.J., Holtorf A.P., Vaughan G.M., Champney T.H., and Reiter R.J. (1984): Effects of injections and/or chronic implants of melatonin and 5-methoxytryptamine on plasma thyroid hormones in male and female syrian hamsters. Neuroendoc. 39: 361-366.

Vega A. (1993): Análisis estadístico en cronobiología. Psiquis. 2 (6). 139-149.

Vivó J.A. (1980): Geografía física. 19ª ed. Herrero. México.

Walcott. C.J. (1977). Exp. Biol. 70: 105-123. Citado por Seem y colaboradores, 1980.

Walker M.L., Gordon T.P. and Wilson M.E. (1983). Biol. Reprod. 29: 841. Citado por Tamarkin y colaboradores, 1985.

Wallace J.M., Robinson J.J., Wigzell S. and Aitken R.P. (1988): Effect of melatonin on the peripheral concentration of LH and progesterone after oestrus, and on conception rate in ewes. J. Endocr. 119:523-530.

Waller S.L., Hudgens R.E., Diekman M.A. and Moss G.E. (1988): Effect of melatonin on induction of estrous cycles in anestrus ewes. J. Anim. Sci. 66:459-463.

Walton J.S., Evins J.D., Fitzgerald B.P. and Cunningham F.J. (1980): Abrupt decrease in daylength and short-term changes in the plasma concentrations of FSH, LH and prolactin in anoestrous ewes. J. Reprod. Fert. 59: 163-171.

Wayne N.L., Malpaux B. and Karsch F.J. (1988): How does melatonin code for day length in the ewe: Duration of nocturnal melatonin release or coincidence of melatonin with a light-entrained sensitive period?. Biol. Reprod. 39: 66-75.

Webster J.R. and Barrel G.K. (1985): Advancement of reproductive activity, seasonal reduction in prolactin secretion and seasonal pelage changes in pubertal reed deer hinds (*Cervus elaphus*) subjected to artificially shortened daily photoperiod or daily melatonin treatments. J. Reprod. Fert. 73:255-260.

Wheaton J.E., Pohl H.A. and Windds H.F. (1990): Effects of melatonin and progesterone administered to ewes in spring and summer. J. Anim. Sci. 68:923-930.

Wiggan L.S. (1967): Studies on fertility in sheep with special reference to artificial insemination and control of ovarian cycles. Ph. D. Thesis, Univ. London. Citado por Ducker y col, 1970a.

Williams H.L. (1967): The intensification of the sheep production. Ph. D. Thesis, Univ. London. Citado por Ducker y col, 1970a.

Williams H.L. and Jackson G. (1971): The short-term effects of a simulated transfer to higher latitudes on breeding ewes. Br. Vet. J. 127:366-371.

Williams H.L. (1974): The reproductive performance of two British breeds of sheep in contrasting photoperiodic environments. J. Agric. Sci. Camb. 82:377-381.

Wurtman R.J. and Axerold J. (1966): A 24-hour rhythm in the content of norepinephrine in the pineal and salivary glands of the rat. Life Sci. 5: 665-669. Citado por Reiter y Vaughan, 1988.

Wurtman R.J., Axerold J. and Kelly D.E. (1968): The pineal. Academic New York. Citado por Seem y colaboradores, 1980.



Yeates N.T.M. (1949): The breeding season of the sheep with particular reference to its modification by artificial means using light. J. Agric. Sci. Camb. 39: 1-43. Citado por: Ducker y Bowman, 1970a; Ducker y colaboradores, 1970 a y b; y Pijoan, 1984.

Yeates, N.T.M. (1955): Aust. J. Agric. Res. 7: 440-446. Citado por Radford, 1961.

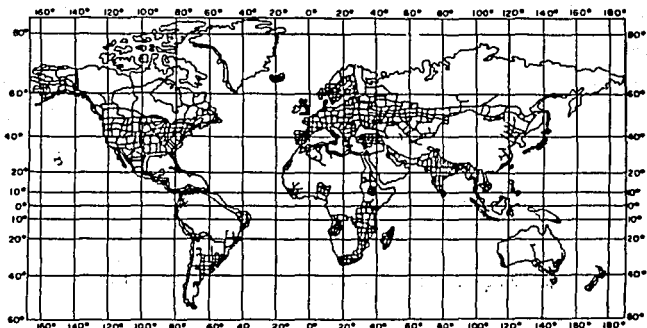
Yeates N.T.M. (1956): The effect of light on the breeding season, gestation and birth weight of Merino sheep. Aust. J. Agr. Res. 7: 440-446.

Zarazaga L., Forcada F., Abecia J.A., and Mozota J. (1993): Efecto de la melatonina exógena y del plano de alimentación tras el destete sobre el comienzo de la actividad sexual y ovárica en ovejas de raza Salz paridas en primavera. Memorias de la V Jornada sobre producción animal. Vol. extra No. 12. Tomo II. Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario. Zaragoza, España. pp. 343-345.

## APÉNDICE 1

### FACTORES QUE DETERMINAN LA LUMINOSIDAD EN DIFERENTES PUNTOS DE LA SUPERFICIE TERRESTRE

El sistema de coordenadas de la Tierra, es decir, los datos que sirven para determinar la posición de un punto de la misma, está basado en el movimiento de rotación. Los puntos fundamentales del sistema son los polos (Norte y Sur), es decir los extremos del eje de rotación. Con esos dos puntos están relacionadas las coordenadas en forma de círculos. Estos son de dos clases: Círculo máximo (aquél que divide la esfera terrestre en dos partes iguales) y círculo menor (el que la divide en dos partes desiguales). El Ecuador es el círculo máximo equidistante de ambos polos y que, por tanto, es perpendicular al eje de rotación de la Tierra. De este modo, el Ecuador divide a la Tierra en dos hemisferios: el septentrional o norte y el meridional o sur. Los paralelos son círculos menores que, como su nombre lo indica, son paralelos al Ecuador. Los principales paralelos que se representan en los mapas, se cuentan de  $0^{\circ}$  a  $90^{\circ}$  a cada lado del Ecuador, por lo que son en total  $180^{\circ}$ . Los meridianos son grandes semicírculos máximos que van de uno a otro polo y se cuentan en  $180^{\circ}$  al igual que sus respectivos antimeridianos. Al recorrerse la Tierra a lo largo de un meridiano se cruzan  $360^{\circ}$  paralelos. La distancia entre dos paralelos, mide un grado de latitud de la esfera. La distancia entre dos paralelos consecutivos se mide en 60 minutos de arco, y cada minuto, a su vez, en 60 segundos de arco (Figura 15). Los trópicos (de Cáncer al Norte y de Capricornio al Sur), son círculos menores o paralelos que distan del Ecuador  $23^{\circ} 27'$ , o sea  $23^{\circ}$  y medio, y del respectivo polo,  $66^{\circ} 33'$ , o sea  $66^{\circ}$  y medio aproximadamente. Los trópicos y círculos polares se han establecido tomando en cuenta la inclinación con que los rayos solares inciden sobre la superficie de la tierra durante el año. Los círculos polares (ártico en el hemisferio norte y antártico en el hemisferio sur) son los círculos menores que marcan los puntos extremos en que el día y la noche duran 24 horas en los solsticios (Vivó, 1980). Figura 16.



**Figura 15. Redes de triangulación geodésica (Tomado de Vivó, 1980).**

Por otro lado, la iluminación de la Tierra por los rayos solares tiene la forma de un círculo llamado "círculo de iluminación", que está limitado por una circunferencia que separa en cada momento la parte iluminada de la parte oscura. Tanto el movimiento de rotación como el de traslación influyen en la distribución geográfica de la insolación. El movimiento de rotación de la Tierra de oeste a este determina un movimiento del círculo de insolación en sentido contrario, es decir de este a oeste. Este movimiento de círculo de insolación sobre la superficie terrestre da lugar a la sucesión de los días y a las noches (Figura 17). El día sideral es el tiempo que tarda la Tierra en dar una vuelta sobre su eje, o sea el tiempo que tarda en girar  $360^\circ$ . El día solar aparente es el intervalo de tiempo comprendido entre dos salidas de Sol, o entre dos pasos sucesivos de un mismo meridiano frente al Sol, o sea de un medio día a otro medio día. El día, sin embargo, no es siempre de la misma duración. Es más largo en verano y más corto en invierno debido a lo que establece la segunda ley de Képler ("El radio vector que une el centro del Sol con el centro de un planeta describe áreas iguales en tiempos iguales"). En virtud de ésta ley la Tierra se mueve más rápidamente cuando está más próxima al Sol y más lentamente cuando está más lejos del mismo, y de esto depende, a su vez, la desigual duración de las estaciones. Los tránsitos del Sol ficticio por el meridiano han determinado el establecimiento del día solar medio. El día solar medio, que parte del supuesto de que el Sol pasará con un movimiento uniforme por el meridiano cada 24 horas, es el que mide el reloj (Vivó, 1980).

El movimiento de traslación de la Tierra alrededor del Sol, que se verifica de modo que el eje terrestre se encuentra inclinado respecto al plano de la órbita, determina un movimiento en el círculo de insolación que origina las estaciones. Así, durante un año, el 21 de marzo y el 22 de septiembre, todos los puntos del globo terráqueo tienen un día y una noche de 12 horas. Estos dos días son, respectivamente,

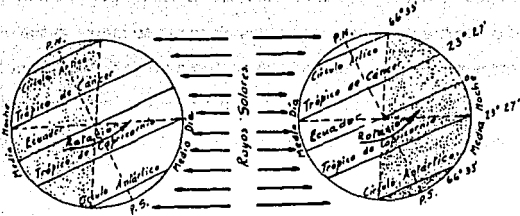


Figura 16. Las zonas astronómicas según Erwin Raisz (Tomado de Vivó, 1980).

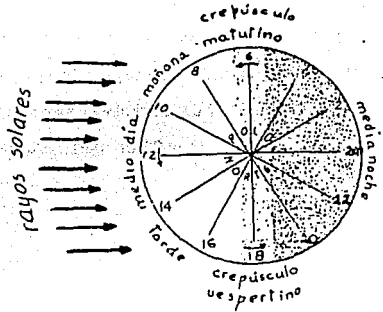


Figura 17. La sucesión de los días y las noches según Erwin Raisz (Tomado de Vivó, 1980).

el equinoccio de primavera y el equinoccio de otoño, que corresponden a las estaciones en que la temperatura es más uniforme sobre la Tierra; por el contrario, el 21 de junio y el 22 de diciembre, los días y las noches alcanzan su mayor desigualdad. Estos dos días son, respectivamente, el solsticio de verano para el hemisferio norte, y de invierno para el hemisferio sur, y el solsticio de invierno para el hemisferio norte, y de verano para el hemisferio sur. En estas estaciones son mayores las diferencias de temperatura de los respectivos hemisferios de la Tierra. Así pues, el solsticio de verano en el hemisferio norte es el día más largo del año, y el solsticio de invierno en el mismo hemisferio es el día más corto del año. De lo anterior se desprende que la duración máxima del día y de la noche aumenta entre más cerca se esté de los polos. Por lo tanto, a los 66° y medio de latitud el día es de 24 horas en el solsticio de verano, y la noche de 24 horas en el solsticio de invierno; y en el polo el día y la noche duran seis meses cada uno (Vivó, 1980). Figura 18.

En base a la antes mencionada dinámica terrestre se sabe que existen cuatro estaciones: 1) Primavera, desde el 21 de marzo hasta el 21 de junio (duración 92 días y 21 horas); 2) Verano, desde el 21 de junio hasta el 22 de septiembre (duración 93 días y 14 horas); 3) Otoño, del 22 de septiembre al 22 de diciembre (duración 89 días y 10 horas); e 4) Invierno, desde el 22 de diciembre hasta el 21 de marzo (duración 89 días). (Vivó, 1980). Figura 19.

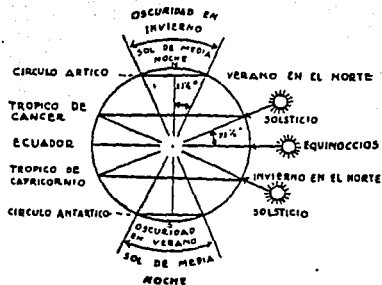


Figura 18. Los solsticios y los equinoccios (Tomado de Vivó, 1980).

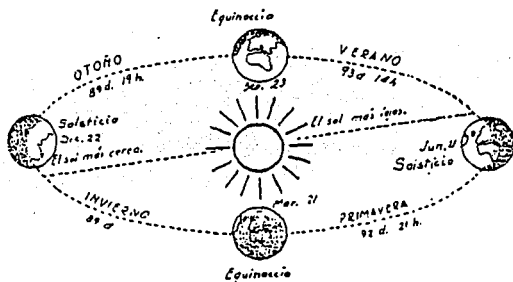


Figura 19. Las estaciones según Erwin Raisz (Tomado de Vivó, 1980).