



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA.

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**EFECTO DE LA ADMINISTRACION DE HORMONA LIBERADORA DE
GONADOTROPINAS O GONADOTROPINA CORIONICA HUMANA 84 HORAS
DESPUES DE INICIADO EL ESTRO SOBRE LA LUTEINIZACION DE LOS
FOLICULOS ANOVULATORIOS Y LA CALIDAD DE LOS EMBRIONES EN
CABRAS SUPEROVULADAS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN PRODUCCION ANIMAL

P R E S E N T A :

ADRIANA SAHARREA MEDINA

**ASESORES: Dr. LUIS ZARCO QUINTERO
Dr. JAVIER VALENCIA MENDEZ**

MEXICO, D. F.

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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 esta 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.

AGRADECIMIENTOS:

A mis asesores: Dr. Luis Zarco Quintero y Dr. Javier Valencia Méndez, quienes hicieron posible la realización del presente trabajo.

A mis amigos y colaboradores quienes me ayudaron durante el desarrollo de la fase experimental, la medición hormonal y la impresión final de la tesis: Verónica Caballero, Carolina Luyando, Alberto Balcázar, José Luis Cerbón, Octavio Mejía, Julio Rosas, Jorge Gavito, Clara Murcia, Susana Rojas, Mariana Bernal, Elizabeth, Fernando, Ericka y Cynthia.

A los doctores Francisco Trigo, Luis Ocampo, Carlos Galina y Andrés Aluja por el interés mostrado en que obtuviera el grado.

A mis compañeros y amigos del Departamento de Reproducción: Joel Hernández, Antonio Porras, Rosa Ma. Páramo, Carlos Esquivel y Salvador Romo, por compartir a diario la labor docente.

A los integrantes del CEPIER por haber facilitado los animales para el presente estudio.

Al CONACYT y a la División de Estudios de Posgrado por la beca otorgada para la realización del experimento.

Al laboratorio Intervet, por haber facilitado la adquisición de los fármacos necesarios para la realización del experimento.

DEDICATORIA:

A cada una de las personas que han contribuído en mi formación personal:

A mis padres:

Por darme la vida y hacerme descubrir las maravillas del universo

A mis hermanas:

Por su cariño y todas nuestras vivencias

A la rocochita:

Por su amistad y por permitirme asombrarme de la vida a través de su mirada

A mis abuelitos:

Por su ejemplo de lucha y bondad

A mi prima Cecilia:

Por su apoyo y confianza

A mi tío Enrique Calvo:

Por brindarme la oportunidad de superarme

INDICE

I INTRODUCCION	1
II REVISION DE LITERATURA	4
2.0 Dinámica del desarrollo folicular	4
2.1 Desarrollo del cuerpo lúteo	6
2.2 Mecanismos involucrados en la luteólisis	8
2.3 Alteraciones en el desarrollo y función folicular en animales superovulados	10
2.4 Permanencia de folículos anovulatorios después de la superovulación	12
2.5 Regresión del cuerpo lúteo en cabras superovuladas	12
2.6 Efectos de la regresión prematura sobre la sobrevivencia y calidad embrionaria en animales superovulados	14
2.7 Efectos de la hCG sobre los folículos	15
2.8 Efectos del GnRH sobre los folículos	16
III MATERIAL Y METODOS	18
IV RESULTADOS	24
V DISCUSION	42
VI CONCLUSIONES	53
VII LITERATURA CITADA	54

Adriana Saharrea Medina EFECTO DE LA ADMINISTRACION DE HORMONA LIBERADORA DE GONADOTROPINAS O GONADOTROPINA CORIONICA HUMANA 84 HORAS DESPUES DE INICIADO EL ESTRO SOBRE LA LUTEINIZACION DE LOS FOLICULOS ANOVULATORIOS Y LA CALIDAD DE LOS EMBRIONES EN CABRAS SUPEROVULADAS. (bajo la dirección de: Dr. Luis Zarco Quintero y Dr. Javier Valencia Méndez)

Resumen

Se realizaron dos experimentos con el objeto de evaluar el efecto de la aplicación de GnRH o hCG 84 horas después de iniciado el estro en cabras superovuladas sobre la luteinización de los folículos anovulatorios, la duración de la fase lútea y el desarrollo de los embriones recuperados en el día 6 post estro. En el primer experimento se utilizaron 22 cabras criollas adultas que estaban ciclando normalmente, las cuales fueron sincronizadas con esponjas intravaginales de acetato de fluorogestona, las cuales permanecieron durante 12 días; 48h antes del retiro del progestágeno las hembras fueron superovuladas con 1000 UI de Gonadotropina coriónica equina, aplicandose además 7.5 mg de Luprostitol al retirar la esponja. Se detectó el momento del inicio estro con machos provistos con mandil, pero las hembras no fueron servidas. 84 h después del retiro del progestágeno se asignaron al azar, el grupo testigo (n=7), que no recibió tratamiento adicional, al grupo hCG (n=7) que fue tratado con una dosis de 1000 UI de hCG y al grupo GnRH (n=8), tratado con 50 µg de GnRH. Se obtuvieron muestras sanguíneas cada 12 horas desde el día uno hasta el día 6 (Día 0=inicio de estro) para determinar las concentraciones de progesterona y la duración de la fase lútea. Adicionalmente, en el día 3 y 6 post estro se realizaron laparoscopías para contar el número de cuerpos lúteos de apariencia normal y cuerpos lúteos en regresión, así como el número de folículos grandes (>0.5cm) y chicos (≤0.5cm). En el segundo experimento se utilizaron 28 cabras (8 del grupo testigo, 10 del grupo hCG y 10 del grupo GnRH) en las que se siguió exactamente el mismo esquema del experimento 1, con excepción de que a estos animales se les dió monta a intervalos de 12 horas a partir del inicio del estro. Además, en lugar de la segunda laparoscopia se realizó la recolección embrionaria en el día 6 del ciclo por medio de laparotomía medio ventral, realizándose la evaluación ovárica directa, los embriones se clasificaron de acuerdo a su estadio en mórulas y blastocitos, y de acuerdo a su calidad en transferibles y no transferibles. En el primer experimento se encontró que todos los animales del grupo hCG mantuvieron sus concentraciones de progesterona por encima de 1ng/ml hasta el día 6 del ciclo, mientras que la mitad de los animales de los otros grupos tuvieron menos de 1ng/ml de progesterona en el día 6 (indicando regresión lútea prematura). Como resultado, las concentraciones de progesterona de los animales del grupo hCG en el día 6 (11.1 ± 1.2 ng/ml) fueron en promedio tres veces mayores ($P < 0.05$) que las del grupo testigo (3.6 ± 1.2 ng/ml), mientras que las del grupo GnRH fueron intermedias (6.0 ± 1.1 ng/ml). En el día 6 el grupo hCG tuvo significativamente ($P < 0.05$) más cuerpos lúteos de buena apariencia (12.0 ± 2.0) que el grupo testigo (2.6 ± 2.0). En todos los grupos aumento el número de cuerpos lúteos en regresión entre el día 3 y el día 6, pero este aumento solo fué significativo en el grupo testigo ($P < 0.05$). Existió correlación significativa entre concentraciones de progesterona y el número de cuerpos lúteos con buena apariencia ($r: 0.8137$, $P < 0.0001$), y correlaciones negativas significativas entre las concentraciones de progesterona y el número de cuerpos lúteos en regresión ($r: -0.7259$, $P < 0.0001$), así como entre la cantidad de cuerpos lúteos de buena apariencia y en el número de cuerpos lúteos en regresión ($r: -0.7259$, $P < 0.0001$) y el número de folículos grandes ($r: -0.4289$, $P < 0.0288$). En el experimento dos las concentraciones de progesterona fueron mayores en el grupo tratado con GnRH (4.9 ± 0.3 ng/ml) que en el grupo testigo (3.3 ± 0.3 ng/ml) ($P < 0.05$), y aunque las diferencias no llegaron a ser significativas, el grupo GnRH presentó casi el doble de cuerpos lúteos de buena apariencia y la mitad de cuerpos lúteos en regresión comparativamente con los otros grupos.

En todos los grupos las concentraciones de progesterona fueron mayores cuando se recuperaron embriones que cuando no se recuperaron ($P < 0.05$), asimismo las concentraciones de progesterona fueron superiores cuando se obtuvieron blastocitos que cuando se obtuvieron mórulas. Existieron correlaciones positivas significativas entre las concentraciones de progesterona con el número de cuerpos lúteos de apariencia buena, así como con el número de embriones en cualquier calidad o etapa de desarrollo, mientras que existió correlación negativa significativa entre las concentraciones de progesterona y el número de cuerpos lúteos en regresión. Se concluye que tanto el tratamiento con hCG como con GnRH reduce la incidencia de regresión prematura de los cuerpos lúteos en cabras superovuladas, lo que puede resultar en la recuperación de un mayor número de embriones totales y de embriones transferibles.

I. INTRODUCCION

La transferencia de embriones es una técnica viable para la mejoría genética en los caprinos (Bessoudo *et al.*, 1988). Sin embargo, una de las dificultades que se presentan al superovular cabras es que se produce una elevada incidencia de regresión prematura de los cuerpos lúteos, los cuales en muchos casos dejan de producir progesterona en tan sólo 3 a 5 días después de la ovulación (Gilbert *et al.*, 1990). Esto resulta en una gran proporción de embriones en degeneración cuando se realiza la colección, entre los 6 y 8 días post-estro (Armstrong *et al.*, 1983b). La regresión prematura de cuerpos lúteos se ha descrito tanto al realizar la superovulación con gonadotropina coriónica equina (eCG, también llamada PMSG) como con hormona folículo estimulante (FSH)(Armstrong *et al.*, 1982a, 1983b; Cameron y Batt, 1991).

La causa de la regresión temprana del cuerpo lúteo durante la superovulación caprina no está bien determinada, pero Armstrong *et al.*, (1982b) sugirieron que puede deberse a las altas concentraciones de 17-beta estradiol secretado por folículos que permanecen sin ovular en el ovario durante el período periovulatorio y la fase lútea temprana. La existencia de folículos anovulatorios persistentes se debe a la asincronía en el desarrollo de los folículos en respuesta a las gonadotropinas exógenas utilizadas para la superovulación (Pendleton *et al.*, 1992a), lo que provoca que algunos folículos aún no cuenten con receptores para hormona Luteinizante (LH) al momento de producirse el pico preovulatorio de esta hormona. Así, algunos folículos permanecen en el ovario sin ovular aún después de que el resto de los folículos han ovulado.

Como resultado de la permanencia de folículos en los ovarios, los niveles de 17 beta estradiol suelen permanecer altos después de la superovulación, alcanzando niveles máximos aproximadamente 7 días después del tratamiento superovulatorio con eCG (Armstrong *et al.*, 1982b). Los altos niveles de estrógenos provocan la regresión temprana del cuerpo lúteo, ya que se ha observado que el establecimiento del patrón de secreción pulsátil de $\text{PGF2}\alpha$ requiere

la aparición de receptores uterinos para la oxitocina (Lutz *et al.*, 1991), los cuales a su vez solamente son sintetizados en la presencia de estradiol (McCracken *et al.*, 1984; Hixon y Flint, 1987; Zhang *et al.*, 1992). Adicionalmente, el estradiol de origen folicular estimula en el endometrio la actividad de la enzima fosfolipasa A2, necesaria para iniciar la síntesis de prostaglandina F2 α (Bazer *et al.*, 1991).

Una alternativa que se ha utilizado para evitar el impacto de la regresión temprana del cuerpo lúteo sobre la viabilidad de los embriones consiste en realizar el lavado en forma temprana, entre los dos y cuatro días después del estro, cuando los cuerpos lúteos aún no han sufrido regresión, sin embargo, los embriones en ese momento aún no han descendido al útero por lo que el lavado se debe de realizar a nivel de oviducto (Armstrong *et al.*, 1983b).

Otra opción ha sido la utilización de hormonas exógenas para tratar de asegurar la ovulación de todos los folículos. Así, Armstrong *et al.*, (1982b) administraron 50 microgramos de GnRH (Hormona liberadora de gonadotropinas) al inicio del estro. Este tratamiento no logró incrementar el índice de ovulaciones ni reducir el número de folículos anovulatorios, lo cual indica que el problema no es la falta de LH, sino la falta de respuesta de algunos folículos a dicha hormona durante el estro.

De esta manera, el problema básico consiste en que en el momento que surge el pico preovulatorio de LH el desarrollo folicular asincrónico no permite que todos los folículos ovulen.

Sin embargo, los folículos que permanecen en el ovario eventualmente desarrollarán receptores para LH (Price y Webb, 1989), por lo que es posible que la aplicación de GnRH o de hCG posteriormente a la ovulación resulte en la luteinización de los folículos persistentes, lo que resultaría en el cese de la producción de estrógenos (Taneja *et al.*, 1991; Doijode *et al.*, 1992). Esto evitaría la aparición prematura de receptores para oxitocina, por lo que no se produciría regresión prematura de los cuerpos lúteos y los embriones podrían continuar su desarrollo hasta el momento de ser colectados.

OBJETIVOS:

Experimento 1 Y 2

Evaluar el efecto de la aplicación de hCG o de GnRH 84 horas después de iniciado el estro en cabras superovuladas sobre la luteinización de los folículos que no hayan ovulado y sobre la duración de la fase lútea, así como correlacionar la producción de progesterona con las diferentes estructuras ováricas.

Experimento 2

Comparar la cantidad y la calidad de los embriones recuperados en el día 6 post estro, así como correlacionar la producción de progesterona con las diferentes estructuras embrionarias.

II. REVISION DE LITERATURA

2.0. Dinámica del desarrollo folicular

En los rumiantes, y en especial los caprinos, el desarrollo folicular es un evento complejo cuya dinámica regulatoria y funcional no está completamente dilucidada. Existen evidencias de que se requieren diversas señales endócrinas, parácrinas y autócrinas para que se lleve a término un ciclo ovulatorio normal (Driancourt, 1991).

Los primeros estadios del desarrollo folicular son independientes de la secreción de gonadotropinas (Driancourt, 1991; McNeilly *et al.*, 1992). Se desconocen los mecanismos que regulan el proceso mediante el cual algunos folículos primordiales comienzan a crecer en un determinado momento. En la oveja, una vez que los folículos alcanzan un diámetro de 2mm se hacen dependientes de las gonadotropinas, las cuales son indispensables para que los folículos sean reclutados para pasar al siguiente estadio de desarrollo (Driancourt, 1991; Scaramuzzi *et al.*, 1993). El eje hipotálamo-hipófisis-ovario juega un papel determinante en la regulación del desarrollo folicular a partir del reclutamiento hasta llegar a la ovulación (Scaramuzzi *et al.*, 1993). El reclutamiento y desarrollo folicular son estimulados por la secreción pulsátil de LH y FSH, las cuales a su vez son estimuladas por la secreción pulsátil de GnRH hipotalámico (Driancourt *et al.*, 1987 ; Moenter *et al.*, 1990).

Numerosos experimentos han demostrado que existen mecanismos de retroalimentación positiva y negativa entre el ovario y el eje hipotálamo-hipófisis, dichos mecanismos intervienen en la regulación del crecimiento folicular (Baird *et al.*, 1991).

Inicialmente los folículos reclutados son totalmente dependientes de FSH para continuar su desarrollo, sin embargo, al alcanzar cierto grado de desarrollo los folículos adquieren independencia relativa con respecto a la FSH, y pueden seguir creciendo bajo el estímulo de la LH (Mc Neilly *et al.*, 1992).

Durante la fase folicular del ciclo, el estradiol y la inhibina producidos por los folículos en crecimiento inhiben la secreción de FSH. De esta manera, si un folículo ha alcanzado el grado de desarrollo requerido para continuar creciendo en ausencia relativa de FSH, es seleccionado para continuar su desarrollo, mientras que los que no lo han hecho sufren atresia (Mc Neilly *et al.*, 1992).

La acción de la FSH en el ovario es modulada por sustancias autócrinas, como el factor de crecimiento epidermal, que es producido en las células de la teca interna. Este factor inhibe el crecimiento de los folículos de menor tamaño.

El folículo o los folículos seleccionados continúan creciendo y en las células de la granulosa se producen sustancias como la activina, el factor de crecimiento fibroblástico y el factor de crecimiento parecido a la insulina número 1 (IGF-1). Estas sustancias potencializan la acción aromatizadora de la FSH para la formación de estradiol (Driancourt, 1991). De esta manera, mientras los folículos subordinados dejan de crecer y sufren atresia, el o los folículos que continúan creciendo (folículos dominantes) producen cada vez mayores cantidades de estradiol.

El aumento de los niveles de estrógenos finalmente activa un mecanismo de retroalimentación positiva sobre el eje hipotálamo-hipofisiario, lo que provoca la liberación masiva de GnRH, que a su vez provoca el pico preovulatorio de LH que finalmente dispara el proceso de ovulación (Short *et al.*, 1988). Sin embargo, este último paso solamente ocurre en ausencia de progesterona, por lo que los folículos dominantes que se desarrollan durante la fase lútea sufren atresia al no encontrar condiciones necesarias para completar su desarrollo (Campbell *et al.*, 1990; Baird *et al.*, 1991). Al proceso mediante el cual los folículos dominantes son seleccionados, crecen y sufren atresia durante la fase lútea del ciclo se le ha denominado oleada folicular (Driancourt y Fry, 1980).

La dinámica folicular en la cabra se caracteriza por tener cuatro o más oleadas foliculares, las cuales se distribuyen a lo largo del ciclo estral: La primera oleada se lleva a cabo entre los días 2 y 5 del ciclo, la segunda entre los días 6 y 9, la tercera entre los días 10 y 15 y la cuarta entre el día 16 y 21, siendo esta última en la que se desarrolla el folículo que llega a

ovular. El 50 % de estas oleadas foliculares se presentan de manera tan contínua que la diferenciación entre ellas no es posible (Ginther y Kot, 1994).

El fenómeno de dominancia folicular es difícil de describir en esta especie porque no tiene un comportamiento constante, además de que pueden existir dos folículos dominantes por oleada, lo cual indica la presencia de ovulaciones dobles (Ginther y Kot, 1994). El diámetro máximo que alcanzan los folículos dominantes en la cabra es de 7 a 10 mm, y los intervalos entre una oleada y la siguiente va de 2.5 a 4.5 días. En la cabra la oleada folicular emerge cuando el folículo dominante de la oleada previa está aún en su pico máximo de desarrollo. Es por lo tanto claro que, en contraste con otras especies como la bovina, la dominancia folicular se presenta de manera más frecuente y con un efecto menos marcado (Sirois y Fortune, 1988).

En las cabras se considera que el reclutamiento se produce a partir de folículos mayores de 4mm, y se ha visto que el 75% de las ovulaciones ocurren durante la cuarta oleada folicular, pudiendo ovular uno o dos folículos. La luteólisis ocurre entre uno y cinco días después de que emergió la cuarta oleada, cuando los folículos más grandes miden entre 4 y 8 mm de diámetro. (Ginther y Kot, 1994).

2.1 Desarrollo del cuerpo lúteo

El cuerpo lúteo es una glándula ovárica transitoria, formada por una población heterogénea de células con características morfológicas, endocrinológicas y bioquímicas diferentes.

Algunas de estas células han sido plenamente identificadas en los rumiantes como células lúteas chicas, células lúteas grandes, fibroblastos, células endoteliales y periocitos (Hansel *et al.*, 1991). De ellas, algunas poseen actividad esteroidogénica importante, especialmente las células lúteas chicas que provienen de la teca folicular, y las células lúteas grandes que provienen de la granulosa (O'shea *et al.*, 1980; Meidan *et al.*, 1990).

Algunos autores consideran que puede existir interconversión entre células lúteas grandes y chicas, lo que indica que no necesariamente tienen un origen diferente (Alila y Hansel, 1984; Smith *et al.*, 1994).

Durante la luteinización, las células foliculares sufren cambios estimulados por el pico preovulatorio de LH, y que se inician aún antes de la ovulación. Estos cambios incluyen transformaciones bioquímicas y morfológicas que habilitan la creación de una estructura ricamente vascularizada capaz de secretar grandes cantidades de progesterona.

Adicionalmente, varios tipos celulares sufren procesos hiperplásicos e hipertróficos en la formación del cuerpo lúteo. Antes de la ovulación, los cambios morfológicos más notables son el incremento en el diámetro del folículo y el adelgazamiento y plegamiento de la pared del mismo; de igual manera el microsistema circulatorio sufre un proceso hiperémico bastante notable, con vasodilatación, edema, congestión y extravasación eritrocítica dentro de la teca interna (Cavender y Murdoch, 1988). Estos cambios ocurren rápidamente después del pico preovulatorio de LH, no obstante el proceso angiogénico del cuerpo lúteo en desarrollo ocurre después de algún tiempo. Los factores angiogénicos y antiangiogénicos involucrados en el desarrollo del cuerpo lúteo no son conocidos del todo, aunque se han identificado cuando menos dos factores de crecimiento que podrían participar en la neovascularización: el factor de crecimiento fibroblástico y el factor de crecimiento parecido a la insulina I (Wiltbank y Niswender, 1992). Otros cambios morfológicos importantes que ocurren después de la ovulación son la proliferación celular (Jablonka-Shariff *et al.*, 1993), la hipertrofia de las células de la granulosa para convertirse en células lúteas grandes, y la proliferación, luteinización y migración de las células de la teca (O'shea *et al.*, 1980).

Los cambios esteroideogénicos que se producen durante la luteinización involucran principalmente la activación enzimática para la producción de progesterona, mientras que la producción de andrógenos y esteroides disminuye debido a la pérdida de la capacidad de síntesis de las enzimas que transforman la progesterona a andrógenos y a estradiol (Baird *et al.*, 1991).

Además, el incremento en el flujo sanguíneo hace que una mayor cantidad de lipoproteínas puedan servir como sustrato para la obtención de colesterol, que es el precursor más importante para la producción de progesterona (Grummer y Carroll, 1988). La LH estimula la síntesis de progesterona en las células lúteas chicas. El efecto de la LH es mediado por el

AMP cíclico, el cual inicia una cadena de eventos que culmina con la entrada de colesterol a la mitocondria, donde es convertido en pregnenolona por efecto de la 20-22 desmolasa de colesterol (Smith *et al.*, 1994). En contraste, en las células lúteas grandes, que son las que producen hasta el 80% del total de progesterona, la biosíntesis de dicha hormona parece no depender de la estimulación de la LH sino que ocurre autónomamente (Wiltbank y Niswender, 1992). Además de la progesterona, las células grandes del cuerpo lúteo producen oxitocina, que actúa principalmente hacia el final de la etapa lútea (Flint, *et al.*, 1986), así como prostaglandinas (Smith *et al.*, 1994).

2.2 Mecanismos involucrados en la luteólisis

La luteólisis en la cabra se caracteriza por una caída brusca en las concentraciones de progesterona entre el día 16 y 18 después del estro, la cual es provocada por la liberación pulsátil de PGF 2α uterina (Ginther y Kot, 1994). Normalmente, para que la luteólisis pueda llevarse a cabo se requiere que la oxitocina producida por el cuerpo lúteo, se una a sus receptores en el endometrio, el cual responde produciendo prostaglandina F 2α , la que posteriormente se une a sus receptores en el cuerpo lúteo y estimula la secreción de más oxitocina, estableciéndose entonces una retroalimentación positiva que se autolimita con la luteólisis (Mc Craken *et al.*, 1984; Wathes y Denning-Kendall, 1992). El proceso que regula el momento en que se destruye el cuerpo lúteo comienza cuando el cuerpo lúteo inicia la producción de progesterona, ya que en dicho momento la progesterona provoca que se empiecen a llevar a cabo en el útero los cambios morfológicos y bioquímicos que determinan el inicio de la secreción de prostaglandinas (Ottobre *et al.*, 1980; Zarco *et al.*, 1988b; Silvia *et al.*, 1991; Dalley *et al.*, 1992).

La exposición a la progesterona tiene efectos a diferentes niveles: estimula la acumulación de precursores para prostaglandinas (ácido araquidónico) a nivel uterino (Silvia *et al.*, 1991), inducen la síntesis de enzimas requeridas para la producción de prostaglandinas (sintetasa de prostaglandinas) (Silvia *et al.*, 1991), pero al mismo tiempo bloquea la actividad de esta

enzima. Este efecto inhibitorio de la progesterona se debe a que la hormona impide que se formen receptores para estradiol a nivel uterino, evitando así que la oxitocina actúe debido a que se requiere la presencia de estradiol para formar receptores para oxitocina (Lau *et al.*, 1993; Silvia y Raw, 1993).

Después de actuar durante 10 ó 12 días la progesterona cataliza la destrucción de sus propios receptores lo que permite que se sinteticen receptores para estradiol (McCracken *et al.*, 1984; Bazer *et al.*, 1991), por lo que esta última hormona puede actuar y estimular la aparición de receptores de oxitocina a nivel uterino. La oxitocina producida y liberada por el cuerpo lúteo se une a sus receptores en el endometrio, activando a la sintetasa de prostaglandinas, con lo que comienza la secreción de $\text{PGF}_2\alpha$ (McCracken *et al.*, 1984; Battye *et al.*, 1988; Silvia *et al.*, 1991).

Para que pueda existir la lisis del cuerpo lúteo se requiere que se establezca un patrón de secreción pulsátil de $\text{PGF}_2\alpha$ (Zarco *et al.*, 1988a), el cual se logra debido a que la oxitocina destruye sus propios receptores una vez utilizados y se requiere que transcurran 6 horas para sintetizar nuevos receptores, por lo que el siguiente pulso de prostaglandinas ocurre después de ese tiempo; estableciéndose de esta manera el modelo de secreción pulsátil (Bazer *et al.*, 1991; Hunter, 1991). La $\text{PGF}_2\alpha$ se sigue secretando en forma pulsátil hasta que logra destruir al cuerpo lúteo (Mc Craken *et al.*, 1984). Para que se complete la luteólisis deben de existir 5 pulsos de $\text{PGF}_2\alpha$ en un período de 25 horas (Zarco *et al.*, 1988a); muchos de los pulsos de $\text{PGF}_2\alpha$ ocurren simultáneos a los pulsos de oxitocina, pero sólo un cuarto de los pulsos de oxitocina son responsables de coordinar los eventos luteolíticos (Burgess *et al.*, 1990).

Al inicio de la regresión lútea se produce un rápido descenso de las concentraciones séricas de progesterona (luteólisis funcional), la cual es inicialmente reversible (Burcher *et al.*, 1974; Diekman *et al.*, 1978; Baird, 1984; Niswender *et al.*, 1994;). Posteriormente se produce la destrucción del tejido lúteo (luteólisis estructural), que es un fenómeno irreversible (Diekman *et al.*, 1978; Braden *et al.*, 1988 ; Niswender *et al.*, 1994;).

Los cambios morfológicos que determinan la regresión lútea incluyen disminución del aporte sanguíneo (Wiltbank y Niswender, 1992); acumulación de gotas de lípidos en el citoplasma de las células lúteas, degeneración de capilares, y un incremento en el número de lisosomas (Nett *et al.*, 1976). Si la regresión lútea continúa existe una reducción en el número de células lúteas esteroideogénicas (Braden *et al.*, 1988).

Los mecanismos involucrados en la luteólisis en las diferentes especies son complejos y variados, pero las evidencias acumuladas sugieren que la acción antiesteroideogénica de la $PGF2\alpha$ está mediada por la proteína Cinasa-C, la cual aparentemente no actúa directamente sobre la actividad de ninguna enzima esteroideogénica ni tiene efecto detrimental sobre la viabilidad celular (Hoyer y Marion, 1989; Wiltbank y Niswender, 1992), sino que inhibe el transporte de colesterol al interior de la mitocondria y probablemente se manifieste a través de un proceso de apoptosis con incremento en la concentración de calcio libre intracelular inmanejable para las células lúteas esteroideogénicas (Compton *et al.*, 1988; Hoyer y Marion, 1989).

2.3 Alteraciones en el desarrollo y función folicular en animales superovulados

La administración de gonadotropinas exógenas en el momento adecuado del ciclo resulta en el reclutamiento, selección y ovulación de un número de folículos mayor al normal para la especie (superovulación).

Existen tres posibles formas en que las gonadotropinas exógenas estimulan la formación de folículos adicionales:

- 1) Las gonadotropinas exógenas provocan el reclutamiento de una mayor cantidad de folículos a partir de la población de folículos en crecimiento (folículos > 2mm de diámetro) (Dott *et al.*, 1979).
- 2) Las gonadotropinas pueden estimular la maduración de folículos que estaban destinados a sufrir atresia (Dott *et al.*, 1979)
- 3) Las gonadotropinas puede rescatar folículos con cierto grado de atresia (Dott *et al.*, 1979).

Ni el desarrollo ni la función de los folículos así estimulados son completamente normales, por lo que se presentan alteraciones en la actividad ovárica que persisten aún después de que la mayoría de los folículos estimulados exógenamente han ovulado (Foote y Ellington, 1988).

Las dos gonadotropinas que se han utilizado para provocar la superovulación en rumiantes son la FSH y la gonadotropina coriónica equina (eCG), antes llamada PMSG. En numerosos experimentos se ha encontrado que generalmente la superovulación con FSH es preferible a la realizada con eCG. Así, Armstrong *et al.*, (1983b) encontraron valores significativamente mayores de LH durante el pico preovulatorio en cabras superovuladas con FSH en comparación con PMSG (21.6 ± 6.8 vs 4.1 ± 1.2) ($P < 0.05$); asimismo Kumar *et al.*, (1992) observaron que los patrones de secreción de FSH, LH, progesterona y estradiol son más parecidos a lo normal al superovular con FSH que al superovular con eCG.

Se conoce el mecanismo por el cual la eCG causa disturbios en la esteroidogénesis folicular *in vivo*, quizás debido a su larga vida media y a que su actividad de LH puede estimular la síntesis de precursores de andrógenos en la teca interna del folículo (Armstrong *et al.*, 1983b; Kumar *et al.*, 1992).

En un experimento se observó que las concentraciones de estradiol en el líquido folicular al momento del retiro de esponjas vaginales que contenían progestágenos fue significativamente mayor en el grupo de animales superovulados con eCG, mientras que no existieron diferencias entre el grupo testigo y el superovulado con FSH (Kumar *et al.*, 1992).

Se ha encontrado que al superovular vacas y cabras con eCG sucede una activación prematura del ovocito, lo cual está asociado con disturbios en las concentraciones de esteroides en el fluido folicular (Kumar *et al.*, 1992).

Igualmente, en cabras superovuladas con eCG existe una proporción significativamente mayor de animales con condensación prematura de la cromatina, comparativamente con aquellas cabras superovuladas con FSH (Kumar *et al.*, 1992).

2.4 Permanencia de folículos anovulatorios después de la superovulación

Cuando se realiza un programa de superovulación no todos los folículos que son estimulados llegan a ovular. Algunos sufren atresia y otros permanecen durante algún tiempo como folículos anovulatorios, manteniendo al menos parcialmente su actividad esteroidogénica. La larga vida media de la eCG provoca el desarrollo de más folículos anovulatorios, en comparación con la FSH. Así, Armstrong *et al.*, (1983b) obtuvieron en promedio 14.5 ± 2.4 folículos anovulatorios en cabras tratadas con eCG, y 4.4 ± 1.9 en cabras tratadas con FSH ($P < 0.05$). Tervit (1983) encontró entre 2.5 y 3.5 folículos anovulatorios por cabra tratada con eCG, mientras que Doidoje *et al.*, (1992) obtuvieron en promedio 6.6 folículos anovulatorios. La presencia de folículos anovulatorios posiblemente se debe a que el proceso de reclutamiento de folículos se prolonga, resultando en la persistencia de grandes concentraciones de estradiol circulante.

Kumar *et al.*, (1992) demostraron que el estradiol está significativamente aumentado en los animales superovulados con eCG en comparación con el grupo superovulado con FSH.

Asimismo, Armstrong *et al.*, (1983b) observaron que las concentraciones circulantes de estradiol permanecían más tiempo por encima de los 30 pg/ml en el grupo superovulado con eCG comparado con el grupo superovulado con FSH (3.6 ± 0.6 días y 0.5 ± 0.2 días respectivamente).

2.5 Regresión prematura del cuerpo lúteo en cabras superovuladas

En la cabra, al igual que en otros rumiantes, existen diversas situaciones en las que se produce la regresión prematura del cuerpo lúteo. Este tipo de regresión generalmente se completa en las cabras alrededor del día 5 a 7 post ovulación (Camp *et al.*, 1983). Los perfiles de progesterona disminuyen alrededor del día 3 y 4 del ciclo, hasta llegar a niveles menores a 1 ng/ml al día 6 (Stubbings *et al.*, 1986; Schiewe *et al.*, 1990; Hunter, 1991; Borque *et al.*, 1993). Los cuerpos lúteos en regresión prematura son pequeños y va de un color de blanco a rosa pálido, debido a una disminución en su vascularización (Armstrong *et al.*, 1983b).

Los cuerpos lúteos de corta duración se presentan en la cabra en la primera ovulación (Camp *et al.*, 1983; Hunter, 1991), al inicio de la pubertad (Hunter, 1991), durante el post-parto (Camp *et al.*, 1983; Braden *et al.*, 1989), así como después de tratamientos de superovulación (Armstrong *et al.*, 1982a; Camp *et al.*, 1983; White *et al.*, 1987; Schiewe *et al.*, 1990).

La regresión prematura del cuerpo lúteo resulta en la presentación de ciclos cortos que tienen en promedio una duración de 6.5 ± 0.5 días (Camp *et al.*, 1983). En este tipo de ciclos el estro conductual dura en promedio 2.9 ± 0.3 días, lo cual no varía significativamente en comparación con la duración del celo en ciclos normales (2.8 ± 0.8 días) (Camp *et al.*, 1983).

Los cuerpos lúteos de vida corta no se originan como consecuencia de una inadecuada secreción de FSH o de LH durante el desarrollo folicular (Dalley *et al.*, 1992). Tampoco se deben a que el pico de LH se lleve a cabo en un momento inadecuado o que tenga una duración anormal (Dalley *et al.*, 1992).

Schiewe *et al.* (1990) indicaron que la regresión lútea también pudiera deberse a una excesiva sensibilidad del tejido lúteo a las luteolisinas, sin embargo Dalley *et al.* (1992), así como Hunter (1991), mencionan que no existe tal efecto.

En ovejas se ha demostrado que el cuerpo lúteo de corta duración es intrínsecamente normal y que su corta vida funcional depende de una liberación prematura de prostaglandina $F2\alpha$ ($PGF2\alpha$) (Schiewe *et al.*, 1990; Hunter, 1991; Garverick *et al.*, 1992). En cabras con regresión prematura del cuerpo lúteo se han identificado pulsos de metabolitos circulantes de prostaglandinas (PGFM) alrededor del día 2 post-ovulación (Battye *et al.*, 1988).

La presencia de progesterona en forma temprana en un animal superovulado podría afectar la vida del cuerpo lúteo, ya que los días de exposición a esta hormona determinan el momento en que se comienza a secretar la $PGF2\alpha$ (Battye *et al.*, 1988; Dalley *et al.*, 1992; ; Burke *et al.*, 1994). Sin embargo, parece más probable que, la producción de estrógenos provenientes de los folículos anovulatorios provoquen la aparición prematura de receptores para oxitocina (Hunter, 1991), lo que resultaría en una liberación prematura de $PGf2\alpha$ (Stubbings *et al.*, 1986; Dalley *et al.*, 1992; Garverick *et al.*, 1992; Burke *et al.*, 1994).

2.6 Efectos de la regresión prematura sobre la sobrevivencia y calidad embrionaria de animales superovulados

Uno de los principales problemas en los programas de transferencia de embriones en cabras es el bajo índice de colección de embriones, el cual se ha atribuido a la regresión prematura de los cuerpos lúteos (Battye *et al.*, 1988).

Este bajo índice de colección de embriones se ha visto más acentuado cuando la superovulación se realiza con eCG (Gonadotropina coriónica equina) en comparación con la FSH (Armstrong *et al.*, 1982a; Armstrong *et al.*, 1987).

Al superovular con eCG se forman una gran cantidad de folículos anovulatorios debido a la larga vida media de la gonadotropina.

La presencia de folículos anovulatorios después de la ovulación podría estar alterando el balance endócrino esencial para el éxito en la colección de embriones, ya que al producir estrógenos podrían alterar el transporte de gametos, la fertilización y la regresión del cuerpo lúteo (Foote y Ellington, 1988; Schiewe *et al.*, 1990).

En un experimento se observó que en vacas superovuladas con eCG y sacrificadas entre 2 y 4 días después de la inseminación se lograba recuperar exclusivamente un tercio del total de los embriones (en base a la respuesta superovulatoria), lo cual hace pensar que quizás los embriones tuvieron un rápido tránsito por el oviducto, probablemente debido al exceso de estrógenos.

Además, el ambiente uterino alterado durante la superovulación provoca una reducción del 20 al 60% en el transporte espermático (Hawk, 1988).

En la cabra la mayor incidencia de fallas en la recuperación de embriones sucede cuando el lavado se realiza entre el día 5 y el día 7 a partir del inicio del estro, que es cuando sucede la falla lútea en aquellos animales con regresión prematura del cuerpo lúteo (Armstrong *et al.*, 1982a; Armstrong *et al.*, 1987).

En contraste, si el lavado se realiza a partir de oviductos entre los días 2 y 4 después de iniciado el estro se logra obtener hasta el 80% de los embriones, lo que indica que el principal

problema no es la falla de fertilización, sino la muerte posterior del embrión (Armstrong *et al.*, 1982a).

La presencia de cuerpos lúteos pequeños y poco vascularizados durante la colección también se ha asociado a la recuperación de embriones de mala calidad (Armstrong *et al.*, 1982b), lo cual concuerda con Armstrong *et al.*, (1987), quienes indicaron que se recuperaron embriones en el 75% de los animales que mantuvieron el cuerpo lúteo hasta el día de la colección, mientras que sólo hubo embriones en el 25% de los animales en los que se produjo la regresión prematura del cuerpo lúteo.

En las borregas se ha comprobado que sobreviven más cuerpos lúteos hasta el día de la colección embrionaria cuando el tratamiento superovulatorio se provoca con FSH que cuando se utiliza eCG, y esto resulta en una mayor recuperación de embriones transferibles en animales tratados con FSH en comparación con los tratados con eCG (Schiewe *et al.*, 1990).

Una posibilidad para evitar los efectos perniciosos de las altas concentraciones de estrógenos producidos por folículos cuando se utiliza eCG sería provocar su luteinización, lo cual puede lograrse con hCG o GnRH.

2.7 Efectos de la hCG sobre los folículos

La hCG es una glicoproteína que consta de dos subunidades, α y β , con un peso molecular de 40 000 daltons. La subunidad α de la hCG es similar a la subunidad α de la LH del humano, cerdo, ovino y bovino (Hafez, 1987). Debido al alto costo de la purificación de LH a partir de la hipófisis, y al hecho de que la hCG es capaz de ocupar los receptores de LH con la misma eficiencia que ésta última hormona, se ha utilizado la hCG en sustitución de la LH (Hafez, 1987; Driancourt *et al.*, 1990).

La gonadotropina coriónica humana (hCG) tiene acciones tanto de LH como de FSH, pero predomina la acción de LH, por ese motivo se ha utilizado como tratamiento de quistes foliculares en ganado bovino lechero, los cuales sufren luteinización después del tratamiento (Hafez, 1987).

En pequeños ruminantes la hCG también actúa como LH. Así, la aplicación de 750 UI de hCG provoca la ovulación en forma efectiva (Driancourt *et al.*, 1990).

Para inducir y sincronizar la ovulación en cabras superovuladas con FSH o con eCG se han utilizado con éxito dosis de entre 500 y 750UI U.I. de hCG aplicadas entre tres y doce horas después de iniciado el estro (Dorn *et al.*, 1989; Taneja *et al.*, 1991; Doidoje *et al.*, 1992). Mahmood *et al.*, (1991) superovularon cabras con 1000 UI de eCG y posteriormente intentaron mejorar los índices de ovulación aplicando 1500 UI de hCG a diferentes intervalos de tiempo (48 horas después de la aplicación de la eCG, al inicio del estro y 24 horas después iniciado el estro) sin lograr una mejoría significativa en el número de ovulaciones ni de ovocitos fertilizados.

Armstrong *et al.*, (1982b) tampoco lograron producir ovulación ni reducir la incidencia de folículos anovulatorios grandes al aplicar en cabras 250 UI de hCG o 50 microgramos de GnRH (Factor liberador de gonadotropinas) 38 horas después de haber aplicado 1000 UI de eCG, lo cual sugiere que probablemente la falla ovulatoria no se debe a falta de GnRH o de LH, sino más bien a que los folículos desarrollados durante la superovulación no pueden responder a la LH debido a una asincronía entre el desarrollo folicular y el pico de LH (Armstrong *et al.*, 1982b).

Por esta razón, al momento en que se produce el pico endógeno de LH en animales superovulados, posiblemente existan folículos que aún no están listos para responder a esta hormona y que permanecen en el ovario sin llegar a ovular. De ser así, sería de poca utilidad el aplicar LH exógena alrededor del momento del estro, ya que los folículos no pueden responder. En cambio, su aplicación 3 ó 4 días después podría ser más efectiva, al haber transcurrido suficiente tiempo para que aparezcan receptores de LH en los folículos.

2.8 Efectos del GnRH sobre los folículos

El GnRH es una hormona utilizada para sincronizar el desarrollo folicular (Wolfenson *et al.*, 1994), para aumentar la secreción de progesterona endógena (Wolfenson *et al.*, 1994; Burke *et al.*, 1994), así como para inducir ovulación (Wolfenson *et al.*, 1994; Hafez, 1987).

Se ha observado que una sola dosis grande de GnRH no logra estimular el desarrollo folicular desde estadios tempranos hasta llegar a la ovulación, pero sí puede hacer que un folículo de 5 ó más milímetros de diámetro ovule (Hafez, 1987).

En cabras superovuladas con 1200 UI de eCG, se observó que la aplicación de 50 microgramos de GnRH 20 horas después de retirar el progestágeno utilizado para la sincronización, resultó en ovulaciones más sincronizadas que en el grupo que no se trató con GnRH. Además se produjeron más ovulaciones en el grupo tratado con GnRH que en el testigo (12.7 ± 1.3 vs 9.7 ± 1.1 respectivamente) ($P < 0.05$) (Cameron *et al.*, 1988).

Asimismo, en otro experimento realizado en cabras en el que se superovuló con FSH (18mg), se comprobó que la aplicación de 50 microgramos de GnRH 24 horas después del retiro del progestágeno mejoró significativamente el índice de ovulación comparativamente con el grupo que no recibió GnRH (18.5 ± 3.7 vs 5.3 ± 4.1) ($P < 0.05$), logrando que el 100% de las cabras tratadas con GnRH ovularan antes de la colección, mientras que en el grupo que no se trató con GnRH sólo ovularon el 60% de los animales. Además, al momento de la colección de embriones los animales tratados con GnRH tuvieron significativamente menos folículos grandes (mayores de 8 mm), que los del grupo testigo (0.7 ± 1.4 vs 7.3 ± 1.4) ($P < 0.01$).

También se redujo el número de folículos medianos (4 a 8 mm), ya que el grupo tratado con GnRH tuvo en promedio 10.9 ± 1.9 folículos medianos contra 22.1 ± 3.2 en el grupo testigo ($P < 0.05$).

Lo anterior sugiere que el tratamiento con GnRH en cabras superovuladas puede incrementar el número de folículos que ovulan, reduciendo el número de folículos medianos y casi eliminando la presencia de folículos mayores de 8mm en el día del lavado (Krisher *et al.*, 1994). Este efecto del GnRH podría evitar que se produjera la regresión prematura del cuerpo lúteo, la cual requiere de estrógenos provenientes de folículos ováricos.

•

MATERIAL Y METODOS

El trabajo se realizó en el Centro de Enseñanza Práctica, Investigación y Extensión en Rumiantes (C.E.P.I.E.R) y en el Departamento de Reproducción de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). El CEPIER se encuentra ubicado en el Km 29 de la Carretera Federal México Cuernavaca, delegación Tlalpan, D.F. a 2760 msnm, 19° 3' latitud norte y 99° 8' longitud oeste. El clima de la región es de tipo c(w) (w) b (ij), que corresponde a semifrío semihúmedo, con lluvias en verano y una precipitación pluvial de 800 a 1200 milímetros (García, 1973).

Se realizaron dos experimentos utilizando 50 cabras Alpinas, Nubias y Toggenburg adultas, las cuales se encontraban estabuladas y se alimentaron con alfalfa achicalada, heno de avena y concentrado comercial.

El trabajo se realizó entre los meses de agosto y diciembre, que corresponde a la época de actividad reproductiva.

Para comprobar que las cabras estaban ciclando se observaron calores con la ayuda de machos celadores provistos de mandil. La detección se realizó dos veces al día por un período de 30 días antes del inicio del experimento, verificándose además la actividad ovárica a través de la determinación de las concentraciones de progesterona plasmática mediante radioinmunoanálisis dos veces por semana durante los mismos 30 días.

Experimento 1

Se utilizaron 22 animales. Todas las cabras se sincronizaron con esponjas intravaginales conteniendo 45 mg de acetato de fluorogestona (FGA)*, las cuales permanecieron en la vagina durante 12 días (Borque *et al.*, 1993). Cuarenta y ocho horas antes del retiro del progestágeno las hembras se superovularon con 1000 UI de Gonadotropina coriónica equina (eCG) ** aplicada por vía intramuscular (Goel y Agrawal, 1990; Cameron y Batt, 1991).

* (FGA) (Chronogest, Intervet, México)

** (eCG) (Folligon, Intervet, México)

Todas las hembras recibieron 7.5 mg de un análogo de Prostaglandina F_{2α} (Luprostiol)*, por vía intramuscular al momento del retiro del progestágeno con el objeto de evitar interferencias en la sincronización de estros debida a la posible presencia de cuerpos lúteos funcionales al momento del retiro de la esponja. La detección de calores inició 24 horas después del retiro de la esponja y se realizó a intervalos de 12 horas, utilizando para ello 4 machos celadores provistos con mandil.

Al presentarse el estro las 22 cabras fueron asignadas al azar a uno de tres grupos: Grupo testigo (n:7), en el cual los animales permanecieron sin tratamiento adicional. Grupo hCG (n:7), en el cual se les administraron 1000 UI de (hCG)** por vía intramuscular 84 horas después de haber iniciado el estro (día 3 pm). Grupo GnRH (n:8), formado por cabras a las que se les administraron 50 µg de (GnRH)*** por vía intramuscular 84 horas después del inicio del estro (día 3pm). El inicio del estro fue considerado como el día 0. Ninguno de los animales fue servido. En todos los animales se realizaron dos observaciones laparoscópicas de los ovarios, la primera en el día 3 am post-estro, con la finalidad de determinar visualmente las estructuras ováricas presentes después de la ovulación pero antes de la aplicación de los tratamientos (día 3pm). La segunda laparoscopia se realizó en el día 6 para para poder valorar si los folículos anovulatorios (folículos presentes durante el período post-ovulatorio) (Armstrong et al., 1983a) habían sido estimulados a ovular o a luteinizarse después de la aplicación del tratamiento con hCG o con GnRH. En cada observación laparoscópica se contaron las estructuras ováricas, se midieron por medio de un manipulador graduado y se clasificaron en cuerpos lúteos de buena apariencia (presentaran un color rojo brillante y tienen más de 5mm de diámetro)(Armstrong et al., 1983a; Hunter et al., 1986), cuerpos lúteos en regresión (de color rosado pálido a blanquecino y miden 5mm o menos de diámetro)(Armstrong et al., 1983a; Hunter et al., 1986), cuerpos lúteos totales (cuerpos lúteos de buena apariencia mas los cuerpos lúteos en regresión), folículos grandes (> 5mm) y folículos chicos (≤5mm)(Armstrong et al., 1983b). .ls1

* (Luprostiol) (Prosolvín, Intervet, México).

** (hCG) (Chorulon, Intervet, México).

*** (GnRH) (Fertagyl, Intervet, México).

A todos los animales se les tomaron muestras de sangre cada 12 horas desde el día posterior al inicio del estro hasta el día 6 post-estro. La sangre se obtuvo por punción yugular utilizando tubos heparinizados al vacío. Se determinaron las concentraciones plasmáticas de progesterona por medio de radioinmunoanálisis de fase sólida (Srikandakumar *et al.*, 1986).

Se consideró que existió regresión lútea prematura cuando las concentraciones de progesterona se incrementaron y posteriormente se redujeron a menos de 1 ng/ml antes del último muestreo (día 6) (Stubbing *et al.*, 1986).

Las concentraciones de progesterona de los tres grupos en cada uno de los muestreos se compararon mediante un análisis de varianza para mediciones repetidas, considerando como variables independientes el día del muestreo y el grupo, con el efecto de animal anidado en el grupo. Adicionalmente, se compararon entre grupos el número de cuerpos lúteos activos, cuerpos lúteos en regresión, folículos grandes y folículos chicos mediante un análisis de varianza de dos factores, los cuales fueron el día de la laparoscopia (3 y 6) y el grupo.

Se realizó un análisis de correlación entre la concentración de progesterona y el número de cuerpos lúteos con buena apariencia, cuerpos lúteos en regresión, folículos grandes y folículos chicos presentes en el día 6. Se realizó una prueba de Fisher para comparar la proporción de animales con cuerpos lúteos en regresión en el día 6, así como la proporción de animales con concentraciones de progesterona menores a 1 ng/ml en el último muestreo.

Experimento 2

Se utilizaron 28 animales que fueron sincronizados y superovulados siguiendo el mismo esquema que en el experimento 1. Se detectaron estros con machos celadores cada 12 horas a partir de 24 horas posteriores al retiro de las esponjas vaginales, y al presentarse el estro las hembras recibieron monta con un macho de fertilidad probada a intervalos de 12 horas hasta que terminara el celo.

Después del último servicio los animales fueron distribuidos al azar a uno de los 3 grupos experimentales. Los animales del grupo testigo (n:8) no recibieron tratamiento adicional, los

animales del grupo hCG (n:10) recibieron 1000 UI de hCG por vía intramuscular 84 horas después del inicio del celo (día 3pm). Los animales del grupo GnRH (n:10) recibieron 50 μ g de GnRH 84 horas después del inicio del celo (día 3pm).

En el día 6 del ciclo se procedió a realizar la colección de embriones mediante la técnica de laparotomía medio ventral (Flores *et al.*, 1992). Para ello, 24 horas antes de la cirugía se dietó a los animales tanto de alimento como de agua. Las cabras fueron preparadas para la cirugía (rasurando, afeitando y desinfectando el área abdominal), y fueron tranquilizados con 0.2 mg/kg de clorhidrato de xilacina (Rompun) por vía intramuscular, y 10 minutos después se procedió a aplicarle un anestésico disociativo, (ketamina a una dosis de 2mg/Kg por vía intravenosa) (Rosnina *et al.*, 1992), aplicando inicialmente la mitad de la dosis total, mientras que la dosis restante se aplicó exclusivamente si era necesario durante el transcurso de la colección. La cirugía se realizó colocando al animal en decúbito dorsal sobre una mesa de cirugía reclinable. Se exteriorizaron los ovarios y se contaron y evaluaron las estructuras ováricas, clasificándolas como cuerpos lúteos de buena apariencia, cuerpos lúteos en regresión, folículos grandes y folículos chicos. Solamente se realizó la colección de embriones en los animales que tuvieron tres o más cuerpos lúteos en los ovarios, lo que se consideró como evidencia de respuesta a la superovulación. En dichos animales se expuso el útero a través de una incisión de 10 cm en la línea media, iniciándose 4 cm adelante de la glándula mamaria; los embriones fueron colectados mediante un lavado uterino con solución salina buferada fosfatada (PBS), adicionada con 4% de albúmina sérica bovina y 100UI/ml de penicilina G sódica (Schiewe *et al.*, 1984; Stefani *et al.*, 1990). Esta solución se introdujo en la luz uterina por medio de un angiocateter del no. 18 G, el cual se introdujo en la parte más cercana a la unión utero tubárica (se hizo presión digital en la unión úterotubárica, con el objeto de evitar la pérdida de embriones por reflujo del medio infundido hacia el oviducto). El medio infundido fue recolectado mediante una sonda de Folley del no. 10 fr. con globo fijador de 3cc., la sonda se introdujo en el lumen uterino cranealmente a la bifurcación del útero, en dirección contraria a la del angiocateter, y se procedió a activar el globo fijador adelante de la bifurcación uterina. Los cuernos fueron lavados individualmente. Se aplicaron aproximadamente 40 ml de

medio por cada cuerno uterino. El medio de lavado fue recolectado en cajas de petri.

Posteriormente a el lavado se procedió a suturar el sitio en el que se introdujo la sonda de Folley por medio de un punto con dexion de cuatro ceros, para posteriormente regresar gentilmente el útero a la cavidad abdominal. Durante todo el proceso el útero fue irrigado continuamente con solución salina fisiológica heparinizada, con la finalidad de evitar adherencias (Armstrong, 1983a). Tanto el peritoneo como la línea blanca se suturaron con puntos en equis con dexion de dos ceros; la piel se suturó con puntos separados con nylon. A los animales colectados se les aplicó una dosis de 7.5 miligramos de luprostiol con la finalidad de lisar los cuerpos lúteos y evitar que quedaran embriones en el útero, y se les administró antibiótico parenteral de larga acción como tratamiento preventivo (García et al., 1992).

Las estructuras recolectadas fueron evaluadas y clasificados como ovocitos o embriones, los cuales a su vez se clasificaron de acuerdo a su calidad en 1:excelente, 2:bueno, 3:pobre y 4: no transferible (Linder y Raymond, 1983; Shea, 1981); y de acuerdo a su estadio en mórula temprana, mórula compacta, blastocisto temprano, blastocisto maduro y blastocisto eclosionado (Pendleton et al., 1992b; Linder y Raymond, 1983).

Los animales fueron sangrados a intervalos de 12 horas, iniciándose el sangrado en el día 1 y concluyendo en el día 6 (día de la colección de embriones), para determinar las concentraciones de progesterona circulantes por medio del método de radioinmunoanálisis de fase sólida (Srikandakumar et al., 1986).

Las concentraciones de progesterona de los 11 muestreos se compararon por medio de un análisis de varianza, utilizando como variables independientes el día del muestreo y el grupo, con el efecto del animal anidado dentro del grupo. Adicionalmente, se compararon por medio de análisis de varianza las concentraciones de progesterona presentes en el día 6 en los animales de los que no se obtuvieron embriones, de aquellos que dieron mórulas y los que dieron blastocistos (considerando la clasificación en base a el estadio el embrión de mayor desarrollo), tomando como variables independientes el el grado máximo de desarrollo y a el

grupo. También se compararon por medio de análisis de varianza las concentraciones de progesterona en el día 6, tomando como variables independientes animales que de los que se recolectaron o no embriones y al grupo. Se utilizó análisis de varianza para evaluar los efectos del tratamiento sobre el número de cuerpos lúteos de buena apariencia, número de cuerpos lúteos en regresión, cuerpos lúteos totales, folículos grandes, folículos chicos, mórulas totales, blastocistos totales, embriones totales y embriones transferibles.

Se realizó un análisis de correlación entre las concentraciones de progesterona en el día 6 post-servicio y el número de estructuras recuperadas durante la colección de embriones (ovocitos, mórulas tempranas, mórulas compactas, total de mórulas, total de blastocistos, embriones totales, embriones calidad excelente, embriones calidad buena, embriones transferibles y estructuras totales), así como las estructuras ováricas observadas durante la colección de embriones (cuerpos lúteos con buena apariencia, cuerpos lúteos en regresión, cuerpos lúteos totales, folículos grandes, folículos chicos). Se utilizó la prueba exacta de Fisher para comparar la cantidad de animales por grupo experimental para las siguientes variables: cantidad de animales que hormonalmente tuvieron regresión prematura de cuerpo lúteo, cantidad de animales de los que se recuperaron o no embriones, cantidad de animales de los cuales se recuperaron embriones transferibles (Navarro-Fierro R., 1988).

IV RESULTADOS

Experimento # 1

En el cuadro 1 se muestran las concentraciones de progesterona promedio de los grupos experimentales en los diferentes días (am-pm). En los primeros cuatro días de muestreo no se encontraron diferencias estadísticas entre grupos experimentales. Durante este período las concentraciones de progesterona se elevaron en forma gradual en todos los grupos. Sin embargo, a partir del día 4 las concentraciones promedio de progesterona en el grupo testigo comenzaron a reducirse, mientras que en el grupo hCG se aceleró el aumento de las concentraciones de progesterona. Se muestra que en el grupo testigo la progesterona disminuyó en forma no significativa entre el día 3 (posterior a la ovulación-anterior al tratamiento) y el día 6 (posterior al tratamiento); en contraste, en el grupo hCG y GnRH las concentraciones aumentaron entre el día 3 y el día 6, resultando este aumento significativo ($P < 0.05$) en el caso del grupo hCG. Para el día 6 el grupo hCG tuvo en promedio significativamente más progesterona que los otros grupos ($P < 0.05$).

En el grupo GnRH las concentraciones se mantuvieron estables entre el día 4 y 6. A partir del día 5 las concentraciones de progesterona fueron significativamente más elevadas en el grupo hCG comparado con los otros grupos ($P < 0.05$). Al suspender el muestreo (día 6), las concentraciones de progesterona en el grupo hCG ($11.1 \pm 1.2 \text{ ng/ml}$) fueron casi tres veces mayores a las del grupo testigo (3.6 ± 1.2), mientras que las del grupo GnRH fueron intermedias. Como resultado, el promedio de progesterona fue significativamente mayor ($P < 0.05$) en el grupo hCG comparativamente con los demás grupos experimentales.

Cuadro 1. Concentraciones de progesterona (ng/ml) en los días posteriores al estro (am-pm) en cabras superovuladas tratadas con hCG o GnRH 84 horas después del inicio del estro.

Día del ciclo	Grupos		
	Testigo n:7 x ± e.e.	Tratado con hCG n:7 x ± e.e.	Tratado con GnRH n:8 x ± e.e.
<i>1 am</i>	0.7a ± 1.6	2.0a ± 1.3	0.7a ± 1.1
<i>pm</i>	0.4a ± 1.5	0.7a ± 1.3	0.8a ± 1.1
<i>2 am</i>	1.3a ± 1.2	0.9a ± 1.2	1.4a ± 1.1
<i>pm</i>	2.6a ± 1.2	2.0a ± 1.2	2.5a ± 1.1
<i>3 am</i>	4.4a ± 1.2	4.0a ± 1.3	4.5a ± 1.1
<i>pm</i>	6.8a ± 1.2	5.5a ± 1.2	4.2a ± 1.1
<i>4 am</i>	6.9a ± 1.2	8.0a ± 1.2	4.4a ± 1.1
<i>pm</i>	5.3a ± 1.2	8.4a ± 1.2	5.0a ± 1.1
<i>5 am</i>	4.3a ± 1.2	10.2b ± 1.2	5.5a ± 1.1
<i>pm</i>	5.0a ± 1.2	14.7b ± 1.2	6.6a ± 1.1
<i>6 am</i>	3.6a ± 1.2	11.1b ± 1.2	6.0a ± 1.1
<i>Promedio grupal</i>	3.7a ± 0.49	6.1b ± 0.4	3.8a ± 0.3

e.e.: Error estándar

a,b Para determinado muestreo (renglón) valores que no comparten por lo menos una literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

Todos los animales del grupo hCG mantuvieron sus concentraciones de progesterona por encima de 1 ng/ml hasta el día 6 del ciclo, en cambio, la mitad de los animales de los otros grupos sufrieron la regresión prematura de los cuerpos lúteos (Cuadro 2).

Cuadro 2 . Clasificación de acuerdo a las concentraciones de progesterona en el día 6 del ciclo, en cabras superovuladas y tratadas con hCG o GnRH 84 hora después del inicio del estro

Concentraciones	Grupos		
	Testigo	Tratado con hCG	Tratado con GnRH
<i>P4 > 1 ng/ml</i>	3 (42.85%)	7 (100%)	5 (62.5%)
<i>P4 ≤ 1 ng/ml</i>	4 (57.15%)	0 (0%)	3 (37.5%)
<i>Total</i>	7 (100%)	7 (100%)	8 (100%)

P4: Progesterona

No existieron diferencias estadísticas ($P > 0.05$)

En el cuadro 3 se muestra el promedio de cuerpos lúteos de buena apariencia encontrados en las laparoscopías realizadas en el día 3 y 6. En el grupo testigo se presentó una disminución significativa en el número de cuerpos lúteos de buena apariencia en el día 6 con respecto al día 3 ($P < 0.05$). En cambio, la reducción fue muy ligera en el grupo GnRH y no ocurrió en el grupo hCG; como resultado, el número promedio de cuerpos lúteos de buena apariencia en el día 6 fue significativamente mayor ($P < 0.05$) en el grupo hCG (12.0 ± 2.0) que en el grupo testigo (2.6 ± 2.0).

Cuadro 3. Cuerpos lúteos de buena apariencia en los días 3 y 6 del ciclo en cabras superovuladas y tratadas con hCG o GnRH 84 horas después del inicio del estro

Día del ciclo	Grupos		
	Testigo n:7 x ± e.e.	Tratado con hCG n:7 x ± e.e.	Tratado con GnRH n:8 x ± e.e.
3	12.6b ± 2.0	10.6ab ± 2.0	8.5ab ± 1.9
6	2.6a ± 2.0	12.0b ± 2.0	6.7ab ± 1.9

e.e.: Error estándar

a,b Valores que no comparten literal (renglón-columna) son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

En el cuadro 5 se observa que el número total de cuerpos lúteos (de buena apariencia y en regresión) en el grupo testigo tendió a disminuir entre el día 3 y el día 6. En cambio el número de cuerpos lúteos tendió a aumentar en el mismo período en los grupos hCG y GnRH.

Cuadro 5. Total de cuerpos lúteos en los días 3 y 6 del ciclo en cabras superovuladas y tratadas con hCG o GnRH 84 horas después del inicio del estro

Día del ciclo	Grupos		
	Testigo n:7 x ± e.e.	Tratado con hCG n:7 x ± e.e.	Tratado con GnRH n:8 x ± e.e.
3	14.1 ± 1.7	11.1 ± 1.7	8.9 ± 1.6
6	9.9 ± 1.7	15.0 ± 1.7	11.1 ± 1.6

e.e.: Error estándar

No existieron diferencias significativas ($P > 0.05$)

El grupo testigo presentó en promedio más folículos grandes que el grupo hCG, mientras que el grupo GnRH no mostró diferencias ni con el grupo testigo ni con el grupo hCG (Cuadro 6). No se observaron diferencias en el promedio de folículos grandes observados en el día 3 en comparación con el día 6 en ninguno de los grupos.

Cuadro 6. Folículos grandes (> 5mm) en los días 3 y 6 del ciclo en cabras superovuladas y tratadas con hCG o GnRH 84 horas después del inicio del estro

Día del ciclo	Grupos			Promedio por día x ± e.e.
	Testigo n:7 x ± e.e.	Tratado con hCG n:7 x ± e.e.	Tratado con GnRH n:8 x ± e.e.	
3	7.4a ± 1.4	3.0a ± 1.4	5.6a ± 1.3	5.3a ± 0.8
6	5.7a ± 1.4	2.1a ± 1.4	3.1a ± 1.3	3.7a ± 0.8
<i>Promedio grupal</i>	6.6a ± 1.0	2.6b ± 1.0	4.4ab ± 0.9	

e.e.: Error estándar

a, b Los promedios grupales que no comparten literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05).

Las diferencias entre días no son significativas (P > 0.05)

El grupo testigo presentó en promedio más folículos grandes que el grupo hCG, mientras que el grupo GnRH no mostró diferencias ni con el grupo testigo ni con el grupo hCG (Cuadro 6). No se observaron diferencias en el promedio de folículos grandes observados en el día 3 en comparación con el día 6 en ninguno de los grupos.

Cuadro 6. Folículos grandes (>5mm) en los días 3 y 6 del ciclo en cabras superovuladas y tratadas con hCG o GnRH 84 horas después del inicio del estro

Día del ciclo	Grupos			Promedio por día x ± e.e.
	Testigo n:7 x ± e.e.	Tratado con hCG n:7 x ± e.e.	Tratado con GnRH n:8 x ± e.e.	
3	7.4a ± 1.4	3.0a ± 1.4	5.6a ± 1.3	5.3a ± 0.8
6	5.7a ± 1.4	2.1a ± 1.4	3.1a ± 1.3	3.7a ± 0.8
<i>Promedio grupal</i>	6.6a ± 1.0	2.6b ± 1.0	4.4ab ± 0.9	

e.e.: Error estándar

a, b Los promedios grupales que no comparten literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05).

Las diferencias entre días no son significativas (P > 0.05)

En el cuadro 7 se muestran que no existió diferencia alguna en el promedio de folículos chicos de acuerdo a el grupo ni el día ($P > 0.05$).

Cuadro 7. Folículos chicos ($\leq 5\text{mm}$) en los días 3 y 6 del ciclo en cabras superovuladas y tratadas con hCG o GnRH 84 horas después del inicio del estro.

Día del ciclo	Grupos			Promedio por día $x \pm e.e.$
	Testigo n:7 $x \pm e.e.$	Tratado con hCG n:7 $x \pm e.e.$	Tratado con GnRH n:8 $x \pm e.e.$	
3	1.8 ± 1.6	5.7 ± 1.6	4.4 ± 1.5	4.0 ± 0.9
6	2.4 ± 1.6	2.8 ± 1.6	5.5 ± 1.5	3.6 ± 0.9
<i>Promedio grupal</i>	2.1 ± 1.1	4.3 ± 1.1	4.9 ± 1.1	

e.e.: Error estándar

No existieron diferencias significativas ($P > 0.05$)

En el cuadro 8 se observa que en el día 6 existió correlación positiva altamente significativa entre las concentraciones de progesterona y el número de cuerpos lúteos de buena apariencia determinados por laparoscopia ($r: 0.81, P < 0.001$). Existieron correlaciones significativas negativas de las concentraciones de progesterona con el número de cuerpos lúteos en regresión ($r:-0.39, P < 0.05$) y con el número de folículos grandes ($r:-0.37, P < 0.06$). También fueron significativas las correlaciones negativas de número de cuerpos lúteos de buena apariencia con el número de cuerpos lúteos en regresión ($r:-0.72, P: < 0.0001$) y con folículos grandes ($r:-0.43, P:0.0288$). Existió una tendencia ($P < .08$) a presentarse correlación positiva del número de folículos grandes con el número de cuerpos lúteos en regresión ($r:0.34$) y negativa con el número de folículos chicos ($r: -0.35$).

Cuadro 8. Coeficientes de correlación evaluados al día 6 del ciclo estral en cabras superovuladas y tratadas con hCG o GnRH 84 horas después del inicio del estro

	Correlaciones significativas	Correlaciones no significativas
Progesterona	<i>C.L. buena apariencia</i> <i>r:0.81</i> <i>P:0.0001</i>	<i>Fol. Chicos</i> <i>r:-0.07</i> <i>P:0.7413</i>
	<i>C.L. Regresión</i> <i>r:-0.39</i> <i>P:0.0502</i>	
	<i>Fol. Grandes</i> <i>r:-0.37</i> <i>P:0.0605</i>	
C.L. Buena apariencia	<i>C.L. Regresión</i> <i>r:-0.72</i> <i>P:0.0001</i>	<i>Fol. Chicos</i> <i>r:0.06</i> <i>P:0.7703</i>
	<i>Fol. Grandes</i> <i>r:-0.43</i> <i>P:0.0288</i>	
C.L. Regresión		<i>Fol. Chicos</i> <i>r:-0.04</i> <i>P:0.8544</i>
		<i>Fol. Grandes</i> <i>r:0.34</i> <i>P:0.0872</i>
Fol. Grandes		<i>Fol. Chicos</i> <i>r:-0.35</i> <i>P:0.0824</i>

C.L.: Cuerpos lúteos
 Folículos grandes: (> 5mm)
 Folículos chicos: (≤ 5mm)

Experimento # 2

En el cuadro 9 se muestran las concentraciones promedio de progesterona de los distintos grupos en cada período de muestreo. Después de aplicar los tratamientos (3am), las concentraciones de progesterona tendieron a ser más elevadas en los grupos tratados que en el testigo. A pesar de que las diferencias sólo fueron significativas entre el grupo tratado con GnRH y el testigo en el muestreo del día 5pm, el promedio de las concentraciones durante todo el muestreo fue significativamente más elevado en el grupo GnRH que en el testigo ($P < 0.05$).

Cuadro 9. Concentraciones de progesterona (ng/ml) en los días posteriores al estro (am-pm), en cabras superovuladas, servidas y tratadas con hCG o GnRH 84 horas después del inicio del estro

Día del ciclo	Grupos		
	Testigo n:8 x ± e.e.	Tratado con hCG n:10 x ± e.e.	Tratado con GnRH n:10 x ± e.e.
1 am	2.3a ± 1.5	1.0a ± 1.0	1.4a ± 1.2
pm	2.9a ± 1.3	0.5a ± 1.1	1.2a ± 1.2
2 am	1.6a ± 1.1	0.9a ± 1.0	1.2a ± 1.0
pm	1.4a ± 1.2	1.6a ± 1.0	2.1a ± 1.0
3 am	3.1a ± 1.1	3.5a ± 1.0	3.8a ± 1.0
pm	3.5a ± 1.1	4.1a ± 1.0	4.7a ± 1.0
4 am	3.6a ± 1.1	6.5a ± 1.0	6.1a ± 1.0
pm	3.6a ± 1.1	6.0a ± 1.2	6.5a ± 1.0
5 am	4.9a ± 1.1	6.1a ± 1.0	8.1a ± 1.0
pm	3.9a ± 1.2	5.8ab ± 1.0	8.9b ± 1.0
6 am	5.7a ± 1.1	6.3a ± 1.0	9.5a ± 1.0
Promedio grupal	3.3a ± 0.3	3.8ab ± 0.3	4.9b ± 0.3

e.e.: Error estándar

a,b Para un determinado muestreo (renglón) valores que no comparten por lo menos una literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

En el cuadro 10 se muestra que más animales del grupo GnRH llegaron a la colección de embriones con concentraciones de progesterona indicativas de presencia de cuerpos lúteos funcionales comparativamente con los otros grupos.

Cuadro 10. Clasificación de acuerdo a las concentraciones de progesterona en el día de la colección de embriones, en cabras superovuladas, servidas y tratadas con hCG o GnRH 84 horas después del inicio del estro

Concentraciones	Grupos		
	Testigo	Tratado con hCG	Tratado con GnRH
<i>P4 > 1 ng/ml</i>	5 (62.5%)	6 (60.0%)	9 (90.0%)
<i>P4 ≤ 1 ng/ml</i>	3 (37.5%)	4 (40.0%)	1 (10.0%)
<i>Total</i>	8 (100%)	10 (100%)	10 (100%)

P4: Progesterona

No existieron diferencias significativas ($P > 0.05$)

En el cuadro 11 se muestran las estructuras presentes en los ovarios al momento de la colección de embriones (día 6). Aunque las diferencias no son significativas, el grupo GnRH presentó casi el doble de cuerpos lúteos de buena apariencia y la mitad de cuerpos lúteos en regresión en comparación a los otros grupos. El número de folículos grandes también fue inferior en el grupo GnRH, mientras que los folículos chicos no se vieron afectados por los tratamientos.

Cuadro 11. Promedio de diferentes estructuras ováricas en el día 6 del ciclo en cabras superovuladas, servidas y tratadas con hCG o GnRH 84 horas después de iniciado el estro

Estructuras evaluadas	Grupos		
	Testigo n:8 x ± e.e.	Tratado con hCG n:10 x ± e.e.	Tratado con GnRH n:10 x ± e.e.
<i>Cuerpos lúteos de buena apariencia</i>	5.1 ± 2.8	5.1 ± 2.5	11.0 ± 2.5
<i>Cuerpos lúteos en regresión</i>	5.2 ± 1.8	5.0 ± 1.6	2.1 ± 1.6
<i>Cuerpos lúteos Totales</i>	10.3 ± 2.5	10.1 ± 2.3	13.1 ± 2.3
<i>Folículos Grandes (> 5mm)</i>	1.4 ± 0.6	2.0 ± 0.6	0.7 ± 0.6
<i>Folículos Chicos (> 5mm)</i>	3.4 ± 1.3	1.8 ± 1.2	3.4 ± 1.2

e.e.: Error estándar
No existieron diferencias significativas (P > 0.05)

En el cuadro 12 se observa que el porcentaje de animales que dieron embriones fue similar en los 3 grupos.

Cuadro 12. *Número de cabras superovuladas, servidas y tratadas con hCG o GnRH 84 horas después del inicio del celo, que dieron o no embriones*

No. de animales	Grupos		
	Testigo	Tratado con hCG	Tratado con GnRH
<i>De los cuales se recuperaron embriones</i>	5(62.5%)	6(60%)	7(70%)
<i>De los cuales no se recuperaron embriones</i>	3(37.5%)	4(40%)	3(30%)
<i>Total</i>	8(100%)	10(100%)	10(100%)

No existieron diferencias significativas ($P > 0.05$)

En todos los grupos las concentraciones de progesterona fueron significativamente más elevadas ($P < 0.05$) en los animales que dieron embriones que en los que no lo hicieron (Cuadro 13).

Cuadro 13. Concentraciones de progesterona (ng/ml) de acuerdo a si se recuperaron o no embriones en cabras superovuladas, servidas y tratadas con hCG o GnRH 84 horas después del inicio del estro

Animales colectados	Grupos			Promedio x ± e.e.
	Testigo n:8 x ± e.e.	Tratado con hCG n:10 x ± e.e.	Tratado con GnRH n:10 x ± e.e.	
Con embriones	9.6b ± 2.4 n:5	9.0b ± 2.2 n:6	12.1b ± 2.0 n:7	10.2b ± 1.3
Sin embriones	0.5a ± 3.1 n:3	1.0a ± 2.7 n:4	2.1a ± 3.1 n:3	1.7a ± 1.7
Promedio grupal	5.0a ± 2.0	5.0a ± 1.7	7.1a ± 1.9	

e.e.: Error estándar

Diferentes literales (renglón-columna) ($P < 0.05$)

No hubo diferencias en el número de animales que presentaron embriones transferibles en cada grupo (Cuadro 14).

Cuadro 14. Porcentaje de cabras superovuladas, servidas y tratadas con hCG o GnRH 84 horas después del inicio del estro que produjeron embriones transferibles

	Grupos		
	Testigo n:8	Tratado con hCG n:10	Tratado con GnRH n:10
<i>Número de animales con embriones transferibles</i>	4 (50%)	6 (60%)	6 (60%)

No existieron diferencias significativas ($P > 0.05$)

En el cuadro 15 se muestra que no hubieron diferencias entre grupos ($P > 0.05$) con respecto al número de mórulas, blastocistos, embriones totales o embriones transferibles recuperados.

Cuadro 15. Promedio de diferentes estructuras embrionarias en el día 6 del ciclo en cabras superovuladas, servidas y tratadas con hCG o GnRH 84 horas después de iniciado el estro

Estructuras embrionarias	Grupos		
	Testigo n:8 x ± e.e.	Tratado con hCG n:10 x ± e.e.	Tratado con GnRH n:10 x ± e.e.
<i>Mórulas Totales</i>	4.0 ± 1.6	2.4 ± 1.5	4.6 ± 1.5
<i>Blastocistos Totales</i>	0.2 ± 0.7	1.8 ± 0.7	0.1 ± 0.7
<i>Embriones Totales</i>	4.2 ± 2.2	4.2 ± 1.9	4.7 ± 1.9
<i>Embriones Transferibles</i>	2.3 ± 1.4	2.7 ± 1.2	3.7 ± 1.2

e.e.: Error estándar

No existieron diferencias significativas ($P > 0.05$)

En el cuadro 16 se observa que en todos los grupos las concentraciones promedio de progesterona fueron significativamente más elevadas en los animales que tenían blastocistos que en aquellos que tenían mórulas y en los que tenían mórulas fueron más elevadas que las que no dieron embriones.

Cuadro 16. Concentraciones de progesterona (ng/ml) de acuerdo a la presencia de embriones con mayor grado de desarrollo durante la colección en cabras superovuladas, servidas y tratadas con hCG o GnRH 84 horas después del inicio del estro

Grado de desarrollo embrionario	Grupos			Promedio x ± e.e.
	Testigo n:8 x ± e.e.	Tratado con hCG n:10 x ± e.e.	Tratado con GnRH n:10 x ± e.e.	
<i>Nulo</i>	0.4a ± 1.8 n:3	1.0a ± 1.6 n:4	2.0a ± 1.8 n:3	1.2a ± 1.0
<i>Mórulas</i>	6.5b ± 1.8 n:3	5.0b ± 2.2 n:2	11.5b ± 1.3 n:6	7.7b ± 1.0
<i>Blastocistos</i>	10.6c ± 2.2 n:2	11.1c ± 1.6 n:4	15.8c ± 3.2 n:1	12.5c ± 1.4
<i>Promedio grupal</i>	5.8a ± 1.1	5.7a ± 1.0	9.8b ± 1.3	

e.e.: Error estándar

Diferentes literales (renglón-columna) ($P < 0.05$)

La "n" indica el número de animales que presentaron una estructura determinada de forma excluyente considerando la de mayor desarrollo

En el cuadro 17 se observa que las concentraciones de progesterona tuvieron correlaciones positivas significativas con el número de embriones en cualquier etapa de desarrollo, así como con el número de embriones totales, transferibles, embriones de calidad buena y embriones de calidad excelente. También existió una correlación altamente significativa entre las concentraciones de progesterona y el número de cuerpos lúteos de buena apariencia. En contraste, existió una correlación negativa altamente significativa entre las concentraciones de progesterona y el número de cuerpos lúteos en regresión.

Cuadro 17. Coeficientes de correlación entre las concentraciones de progesterona y algunas estructuras ováricas y embrionarias de cabras superovuladas, servidas y tratadas con hCG o GnRH 84 horas después del inicio del estro

Progesterona

significativas

<i>Mórulas Tempranas</i>	r:0.50 P:0.0115
<i>Mórulas Compactas</i>	r:0.46 P:0.0209
<i>Mórulas Totales</i>	r:0.66 P:0.0003
<i>Blastocistos Totales</i>	r:0.40 P:0.0505
<i>Embriones Totales</i>	r:0.65 P:0.0004
<i>Embriones Calidad Exelente</i>	r:0.60 P:0.0016
<i>Embriones Buenos</i>	r:0.59 P:0.0019
<i>Embriones Transferibles</i>	r:0.69 P:0.0001
<i>Estructuras Totales</i>	r:0.70 P:0.0001
<i>Cuerpo Lúteo de buena apariencia</i>	r:0.77 P:0.0001
<i>Cuerpo Lúteo en Regresión</i>	r:-0.67 P:0.0003
<i>Cuerpos Lúteos Totales</i>	r:0.43 P:0.0318

No significativas

<i>Ovocitos</i>	r:0.24 P:0.2392
<i>Folículos Grandes (> 5mm)</i>	r:-0.06 P:0.7759
<i>Folículos Chicos (≤ 5mm)</i>	r:-0.18 P:0.3764

V DISCUSION

En el presente estudio, para evaluar los efectos de los tratamientos sobre la función lútea se utilizó, además de las determinaciones plasmáticas de los niveles de progesterona, la observación visual de los ovarios, para la clasificación de los cuerpos lúteos, según su apariencia, en cuerpos lúteos de buena apariencia o cuerpos lúteos en regresión (Armstrong y Evans, 1983; Hunter *et al.*, 1986). La validéz de los resultados depende entonces de la demostración de que la apariencia de los cuerpos lúteos realmente es un reflejo de su estado funcional. Esto se comprobó en ambos experimentos, ya que en los dos existieron correlaciones altamente significativas ($P=0.0001$) entre las concentraciones de progesterona y el número de cuerpos lúteos de buena apariencia (Cuadro 8 y 17), lo que indica que las estructuras clasificadas como cuerpos lúteos de buena apariencia realmente lo eran. Esto coincide con lo informado por otros autores, ya que Schiewe *et al.*, (1990) encontraron que si existen cuerpos lúteos de buena apariencia hay buena producción de progesterona y viceversa ($r:0.84$, $P:0 < 0.01$), también Jarrell y Dziuk (1991) encontraron diferencias estadísticas al comparar las concentraciones de progesterona de los animales con mayor cantidad de cuerpos lúteos. Otros autores también han encontrado que entre más y mejores cuerpos lúteos esten presentes, las concentraciones de progesterona aumentan (Stubbings *et al.*, 1986; Hunter, 1991; Battye *et al.*, 1988), disminuyendo así la incidencia de cuerpos lúteos en regresión.

También se demostró que las estructuras identificadas como cuerpos lúteos en regresión realmente son cuerpos lúteos que han perdido su función, ya que en ambos experimentos hubo correlaciones negativas altamente significativas entre las concentraciones de progesterona y el número de cuerpos lúteos en regresión (Cuadro 8 y 17).

El que exista una correlación negativa entre la progesterona y los cuerpos lúteos en regresión se debe al hecho de que, si existen cuerpos lúteos en regresión se reduce la presencia de

cuerpos lúteos de buena apariencia, ya que los cuerpos lúteos en regresión derivan de cuerpos lúteos de buena apariencia, disminuyendo la proporción de estos últimos. Esto es demostrado por la correlación negativa altamente significativa ($P=0.0001$) encontrada entre el número de cuerpos lúteos de buena apariencia y el número de cuerpos lúteos en regresión (Cuadro 8).

Esto coincide con lo encontrado por Niswender *et al.*, (1994) y por Stubbing *et al.*, (1986) quienes mencionan que los cuerpos lúteos en regresión derivan de los cuerpos lúteos de buena apariencia y por lo tanto los cuerpos lúteos en regresión se asocian con menores concentraciones de progesterona, lo cual ha sido anteriormente informado por Battye *et al.*, (1988) y por Hunter (1991).

La correcta clasificación de los cuerpos lúteos de buena apariencia o en regresión también fue demostrada por Cerbón (1995), quien encontró en ovejas una correlación positiva entre el número de embriones y el número de cuerpos lúteos de buena apariencia y negativa entre el número de embriones y cuerpos lúteos en regresión.

Aunque en el presente estudio los porcentajes de regresiones prematuras obtenidas para todos los grupos experimentales resultaron ser inferiores a lo encontrado en cabras superovuladas con eCG por Armstrong *et al.*, (1983b, 1987) (81.25 %) y (87.5 %). Los tratamientos utilizados en el presente estudio fueron parcialmente efectivos para evitar la regresión de los cuerpos lúteos, ya que en el primer experimento el grupo testigo fue el único que tuvo significativamente más cuerpos lúteos en regresión en el día 6 (7.3 ± 1.4) en comparación con el día 3 (1.6 ± 1.4) (Cuadro 4). Sin embargo, aunque no fue significativo, en los grupos tratados también aumentó el número de cuerpos lúteos en regresión en el día 6 con respecto al día 3. Además, en el segundo experimento (Cuadro 11) los tratamientos no resultaron en una reducción en el número de cuerpos lúteos en regresión.

El promedio de cuerpos lúteos en regresión encontrado por Pendleton *et al.*, (1992a) (8.4 ± 2.4) es superior a lo encontrado en cualquiera de los grupos de los dos experimentos del trabajo.

Sin embargo, el número de cuerpos lúteos en regresión presentes en el día 6 puede ser menor al número de cuerpos lúteos que han sufrido regresión, ya que al regresar los cuerpos

lúteos pueden desaparecer rápidamente y ya no ser visibles al día 6. Esto se pone de manifiesto al observar que en el grupo testigo del primer experimento el total de cuerpos lúteos (cuerpos lúteos de buena apariencia mas cuerpos lúteos en regresión) fue menor en el día 6 (9.9 ± 1.7) que en el día 3 (14.1 ± 1.7), lo que indica que en el promedio 4 cuerpos lúteos dejaron de ser visibles entre el día 3 y 6 (Cuadro 5). Por esta razón aunque sólo se identificaron 7.3 ± 1.4 cuerpos lúteos en regresión en el día 6 en el grupo testigo (Cuadro 4), es posible que en realidad haya sufrido regresión alrededor de 10 u 11 cuerpos lúteos en este grupo (los identificados en regresión mas los que desaparecieron). Esto se comprueba al notar que de 12.6 ± 2.0 cuerpos lúteos de buena apariencia presentes en el día 3 en el grupo testigo, solamente permanecían presentes 2.6 ± 2.0 en el día 6 (Cuadro 3). El hecho de que para el día 6 ya hubiera ocurrido un aumento significativo en el número de casos de regresión lútea en el grupo testigo coincide con lo encontrado por Battye *et al.*, (1988) y por Schiewe *et al.*, (1990) quienes mencionan que la regresión lútea prematura puede ocurrir a partir del día 3 o 4, disminuyendo drásticamente las concentraciones de progesterona hasta llegar a niveles basales, por lo tanto hay un efecto acumulativo de este tipo de estructuras para el día 6, además de que físicamente la regresión prematura puede ser detectada a partir del día 4, resultando ser más evidente conforme pasan los días (Stubblings *et al.*, 1986; Borque *et al.*, 1993).

En contraste, en los grupos tratados es posible que el número de cuerpos lúteos que sufrieron regresión haya sido considerablemente menor, (Cuadro 4), ya que además de que se identificaron menos estructuras en regresión, el número total de cuerpos lúteos de buena apariencia no disminuyó entre el día 3 y el día 6 (Cuadro 3). Tampoco se registró una disminución en el número total de cuerpos lúteos (de buena apariencia mas en regresión) (Cuadro 5).

Durante la laparoscopia del día 6 el grupo al que se le aplicó hCG presentó significativamente más cuerpos lúteos de buena apariencia comparativamente con el grupo testigo (Cuadro 3). Además, los animales tratados con hCG fueron los únicos en los que aumento el promedio de cuerpos lúteos de buena apariencia y el de cuerpos lúteos totales entre la primera y la segunda

laparoscopia (Cuadro 3 y 5).

Aunque el aumento no fue significativo, sugiere que en este grupo el tratamiento indujo ovulaciones adicionales a partir de folículos desarrollados tardíamente en respuesta a la eCG.

Esto coincide con Pratt *et al.*, (1982) quienes observaron que al aplicar GnRH o hCG se induce a formar cuerpos lúteos. Igualmente Armstrong *et al.*, (1982b) observaron que al aplicar hCG 38 h después de la aplicación de eCG no se incrementaba significativamente el número de folículos ovulados, y mencionan que quizás la falla provenga en sí del tipo de folículos presentes en el momento de la administración del tratamiento, o al hecho de que los folículos destinados a formar un cuerpo lúteo anormal tienen un decremento en el número de receptores a LH (Inskeep *et al.*, 1988).

Sin embargo, en el presente experimento los tratamientos se aplicaron 84 horas después del inicio del estro, por lo que transcurrieron varios días adicionales para el desarrollo de receptores para LH, lo que pudo facilitar la respuesta ovulatoria de los folículos.

La cantidad de cuerpos lúteos totales obtenida en los dos experimentos del presente estudio (Cuadros 5 y 11) resulta ser similar a lo observado por Pendleton *et al.*, (1992a) quienes encontraron un promedio de 12.5 ± 1.8 cuerpos lúteos totales y es superior a lo obtenido por Rosnina *et al.*, (1992) quienes utilizaron 1000 UI de eCG y obtuvieron 7.9 cuerpos lúteos en promedio.

Como resultado de la mayor incidencia de regresión prematura de los cuerpos lúteos en los grupos testigo, en los dos experimentos del presente estudio, se encontró un mayor porcentaje de animales con niveles de progesterona menores a 1 ng/ml en el día 6 en dichos grupos, comparados con los tratados (Cuadro 2 y 10).

Aunque las diferencias no fueron significativas en ninguno de los dos experimentos si se toman en conjunto los resultados de los dos experimentos, se tiene que el porcentaje de animales sin cuerpo lúteo funcional en el día 6 fue el doble en los grupos testigo (46%) comparado con los grupos hCG (27%) y GnRH (22%).

El porcentaje de regresiones prematuras obtenidas no coincide con lo encontrado por Stubbings *et al.*, (1986) quienes observaron que con 1000 UI de eCG se presentó el 22.22% de

animales con regresión prematura del cuerpo lúteo, lo cual es muy inferior a lo encontrado en el presente estudio. Existe una gran variación entre autores, ya que Armstrong *et al.*, (1987) encontraron que al superovular con 1250 UI de eCG el 87.5% de los animales presenta fases lúteas cortas (las cuales son indicativas de regresión lútea prematura). Por lo que no se puede afirmar que los resultados del presente experimento están dentro de un rango normal.

En el presente estudio se planteó la hipótesis de que la regresión prematura de los cuerpos lúteos en cabras superovuladas es provocada por la presencia de folículos estrogénicos que permanecen sin ovular.

Esto es confirmado por la correlación negativa significativa ($r = -0.43$, $P < 0.05$) encontrada entre el número de folículos grandes y el número de cuerpos lúteos buenos en el día 6 (Cuadro 8).

También existió una alta correlación negativa ($r = -0.37$, $P = 0.06$) entre el número de folículos grandes y las concentraciones de progesterona (Cuadro 8). Estos resultados indican que entre más folículos estén presentes en los ovarios, es menos probable que los cuerpos lúteos sobrevivan hasta el día 6 post-estro. En este sentido Pathak *et al.*, (1990) observaron que existe una relación inversa entre concentraciones de progesterona y el estradiol durante la fase lútea de cabras que se encuentran ciclando. Otros investigadores también han sugerido que los folículos grandes tienen correlación negativa con los cuerpos lúteos de buena apariencia y positiva con los cuerpos lúteos en regresión, indicando que la regresión prematura es provocada por una liberación prematura de estradiol por parte de los folículos, provocando así la liberación temprana de $PGF2\alpha$ (Battye *et al.*, 1988).

En el presente trabajo también se observó una tendencia a que haya una correlación negativa entre el número de folículos grandes y el número de folículos chicos (Cuadro 8).

El hecho de que en el presente estudio no existieran diferencias entre la cantidad de folículos grandes entre las laparoscopías del día 3 y 6, así como de los promedios grupales de acuerdo a el día de la laparoscopia (Cuadro 6), pudiera deberse a la larga vida media de la eCG, provocando que continuamente hubiese desarrollo folicular y por lo mismo existan folículos

grandes en cualquier momento, ya que tanto el desarrollo como la madurez folicular son eventos que transcurren rápidamente en la cabra (Camp *et al.*, 1983; Cameron y Batt., 1991).

A pesar de que se demostró que los tratamientos empleados redujeron la incidencia de regresión prematura de los cuerpos lúteos de cabras superovuladas, y de que se encontró una relación negativa entre la presencia de folículos ováricos y la sobrevivencia de los cuerpos lúteos no se pudo demostrar que el efecto de los tratamientos fuera debido a una reducción en el número de folículos.

Aunque en el primer experimento se encontró que en promedio había más folículos grandes en el grupo testigo que en los tratados (Cuadro 6), esa diferencia estaba presente desde la laparoscopia realizada en el día 3, antes de la aplicación de los tratamientos, por lo que puede atribuirse a los mismos.

Además, en el segundo experimento no se encontró diferencia en el número de folículos grandes entre tratamientos (Cuadro 11).

Estos resultados no coinciden con los de otros autores, ya que Krisher *et al.*, (1994) al aplicar 50 microgramos de GnRH disminuyeron significativamente los folículos entre 4 y 8 mm y casi no se presentaron folículos grandes (8mm) en el día del lavado, asimismo dichos autores lograron que el 100% de las cabras ovularan, mientras que del grupo no tratado con GnRH exclusivamente ovularon el 60% de los animales; Cameron *et al.*, (1988) también reportaron que con esa misma dosis de GnRH provocó que el 91% de los animales ovularan en un período de 12 h, además de haber incrementado el número de folículos ovulados.

Por otra parte, se debe reconocer que la observación laparoscópica de los folículos no permite saber si un folículo es estrogénico o está luteinizado (produciendo progesterona), por lo que no se puede descartar que el efecto de los tratamientos sobre la regresión prematura de cuerpos lúteos se haya debido a la inactivación de la capacidad estrogénica de los folículos sin causar su desaparición física. Esto podría explicar el porque en el segundo experimento no se encontró una correlación negativa entre el número de folículos grandes y las concentraciones de progesterona (Cuadro 17). El efecto selectivo de los tratamientos sobre los folículos estrogénicos podría deberse a que la habilidad de responder a LH estaba presente

principalmente en los folículos que producen altas concentraciones de estradiol (Driancourt *et al.*, 1990). Por otra parte, es evidente que los tratamientos provocan la ovulación de algunos folículos, ya que tanto en el grupo hCG como en el grupo GnRH hubo más cuerpos lúteos en el día 6 que en el día 3 en el experimento 1 (Cuadro 5). Sin embargo, los folículos que ovularon pueden haber sido reemplazados por folículos que crecieron y se luteinizaron por efecto de los mismos tratamientos. A pesar de ello, el promedio de folículos grandes obtenidos en este experimento resulta ser inferior a los promedios encontrados en la literatura para este tipo de estructuras : 3.1 ± 1.8 (Pendleton *et al.*, 1992a; 5.6 ± 2.0 (Armstrong *et al.*, 1982b) y 5.8 ± 1.9 (Armstrong *et al.*, 1983b).

El hecho de que tampoco existieran diferencias en cuanto al promedio de folículos chicos entre los grupos experimentales (Cuadro 7 y 11), ni entre días ni entre la interacción de ambas variables (Cuadro 7), pudo haberse debido en primera instancia a que se superovuló con eCG, con lo cual hay constantemente desarrollo folicular (Cameron y Batt, 1991), y a el hecho de que para que la hCG o la GnRH actúen sobre los folículos es indispensable que estén lo suficientemente maduros para que presenten receptores a LH. En este sentido Krisher *et al.*, (1994) demostraron que los folículos menores de 4mm de diámetro no fueron afectados por la aplicación de GnRH.

Además, los folículos grandes tienen un efecto negativo sobre los folículos chicos ya que bloquean su desarrollo al secretar inhibina (Henderson *et al.*, 1986; Martin *et al.*, 1987; Knigh, 1991).

En los cuadros 1 y 9 se observa que las concentraciones de progesterona de los grupos testigo se estabilizan (Cuadro 9) o descienden (Cuadro 1) después del día 3. Este comportamiento se debe a que en el grupo existen una mezcla de animales en los que se produce regresión prematura de los cuerpos lúteos con otros en los que no se produce la regresión prematura y continúan produciendo progesterona. En contraste en los grupos tratados, ya sea con hCG o GnRH se observa que los niveles promedio de progesterona continúan aumentando hasta el final del experimento.

Esto se debe en parte a que en dichos grupos hubo menos casos de regresión prematura de los cuerpos lúteos (Cuadro 2 y 10). Sin embargo parte de este aumento en las concentraciones de progesterona seguramente es debido a la luteinización de folículos y/o ovulación de los mismos. Como se mencionó anteriormente, en los grupos tratados se produjeron ovulaciones adicionales. Dorn *et al.*, (1989) demostraron que la ovulación sucede alrededor de 20 a 24 horas después de haber aplicado el tratamiento de hCG.

Debido a que el momento en el cual se empezaron a incrementar las concentraciones de progesterona (36 horas después de aplicar los tratamientos) y al hecho de que el tiempo requerido para provocar ovulación y posteriormente dar lugar a un cuerpo lúteo es de 72 horas (20 a 24 para la ovulación mas 48 para formar el cuerpo lúteo), se podría suponer que el efecto logrado en el presente estudio correspondió exclusivamente a la luteinización de los folículos anovulatorios y no a la ovulación de los mismos. Kumar *et al.*, (1992) encontraron que las concentraciones de progesterona aumentaban 18 horas después de la aplicación de hCG. Sin embargo, el aumento en el número de cuerpos lúteos totales en los grupos tratados (Cuadro 5) indica que sí se produjeron ovulaciones, y al ser estas múltiples, podrían provocar un aumento en las concentraciones de progesterona desde etapas tempranas de la formación lútea.

El que durante el último muestreo del primer experimento, las concentraciones de progesterona de los grupos hCG y GnRH mostraron tener diferencias significativas entre sí (Cuadro 1), y al hecho de que el promedio de progesterona de los animales tratados con GnRH nunca llegaron a ser significativamente diferentes a los del grupo testigo, podría indicar que el GnRH fue menos efectivo que la hCG. Esto podría deberse a lo encontrado por Pratt *et al.*, (1982) mencionan que al inducir la ovulación en vacas con GnRH o con hCG se induce la misma cantidad de cuerpos lúteos, pero que los cuerpos lúteos desarrollados por los animales tratados con GnRH tienen una vida más corta comparativamente con la de los cuerpos lúteos formados al tratar a los animales con hCG. Sin embargo en el segundo experimento se presentó el efecto contrario, ya que las concentraciones finales de progesterona fueron superiores en el grupo tratado con GnRH comparado con el grupo tratado con hCG (Cuadro

9). En dicho experimento estos resultados son contrarios a lo encontrado en el primer experimento y quizás se deba a que la hCG es una hormona que produce anticuerpos a partir de la tercera o cuarta aplicación (Driancourt *et al.*, 1990), siendo el caso de algunos de los animales utilizados en el presente experimento.

Al evaluar las concentraciones promedio de progesterona del grupo hCG en el experimento 2 (Cuadro 9) no se logró observar ninguna diferencia con el grupo testigo o el grupo GnRH, Schomberg *et al.*, (1967) observaron un efecto similar al administrar hCG a vacas, logrando incrementar el tamaño del cuerpo lúteo, pero obtuvieron una gran variación en cuanto a la producción de progesterona de dicho tejido lúteo. También pudo haberse debido al hecho de que el efecto del hCG depende del momento en el cual se aplique, ya que Price y Webb (1989) observaron que existían significativamente más animales con cuerpos lúteos al aplicar hCG entre los días 4-7 y 14-16 del ciclo estral.

Borque *et al.*, (1993) también indicaron que los mejores resultados se obtienen durante el metaestro temprano. En el presente experimento la hormona se aplicó en el día 3 del ciclo.

Se pudo confirmar que la regresión prematura de los cuerpos lúteos en cabras superovuladas afecta la producción de embriones, ya que en todos los grupos las concentraciones de progesterona al momento de la colección fueron significativamente menores en las cabras de las que no se recuperaron embriones comparadas con aquellas de las que sí se recuperaron embriones (Cuadro 13).

Además, las concentraciones de progesterona fueron más elevadas en los animales que produjeron blastocistos comparados con aquellos que sólo produjeron mórulas (Cuadro 16). Lo anterior indica que hay una relación directa entre función lútea y desarrollo embrionario. Esta relación se confirma al encontrarse correlaciones altamente significativas entre las concentraciones de progesterona y todos los tipos embrionarios (Cuadro 17).

Otros autores han mencionado que las concentraciones de progesterona son mayores cuando se recuperan embriones que cuando no se recuperan embriones, sugiriendo que sólo si existe el ambiente adecuado el embrión podrá desarrollarse adecuadamente (Borque *et al.*, 1993).

Hawk, (1988) mencionó que si existen bajas concentraciones de progesterona puede haber pérdida embrionaria debido a un aumento en la motilidad del embrión en el aparato reproductor femenino. Ashworth y Bazer (1989), mencionan que las altas concentraciones de progesterona aceleran el desarrollo embrionario, ya que ellos también encontraron que al recuperar blastocistos hay mayores concentraciones de progesterona que cuanto se recuperan mórulas.

La correlación de progesterona con los embriones totales obtenidas en el presente estudio también concuerda con lo encontrado por Rosnina *et al*, (1992) quienes observaron que al existir regresión prematura (y por lo tanto decremento de los niveles de progesterona) disminuyen los índices de recuperación de embriones. Asimismo, las correlaciones de progesterona con los embriones transferibles coinciden con lo encontrado por Borque *et al*, (1993) y por Jarrell y Dziuk (1991), quienes observaron que el promedio de embriones transferibles disminuye si existe falla lútea.

Al evaluar el número de cabras que dieron embriones en los diferentes grupos experimentales no se encontraron diferencias significativa, sin embargo 70% de animales del grupo tratado con GnRH dieron embriones, seguido por los animales del grupo testigo con el 62.5% y finalizando con el grupo hCG con 60% (cuadro 12). Quizás el grupo tratado con GnRH fue el que dió la mayor proporción de embriones debido a que también fue el grupo que mayores promedios de progesterona tuvo, ya que la tendencia de que existieran significativamente mayores concentraciones de progesterona en los animales en los que sí se recuperaron embriones fue general para los tres grupos, y aunque no existieron diferencias entre los promedios de progesterona por grupos, las concentraciones más altas de progesterona se obtuvieron en los animales tratados con GnRH.

En el cuadro 15 se observa que no existieron diferencias significativas entre grupos con respecto al estadio o calidad de los embriones. El hecho de que el grupo GnRH haya sido el grupo que presentó las mayores concentraciones de progesterona y haya sido el grupo que numéricamente tuvo el mayor promedio de mórulas y el menor promedio de blastocistos resulta ser contrario a lo encontrado por Ashwoth y Bazer (1989) quienes mencionaron que

cuando las concentraciones de progesterona se incrementan puede verse acelerado el desarrollo embrionario. Aunque habría que considerar que el grupo con menor cantidad de blastocistos, fue también el grupo que presentó el mejor promedio de embriones transferibles, lo cual resulta ser de mayor importancia. A pesar de ello, se encontró que no existieron diferencias entre grupos de acuerdo a la cantidad de animales de los que se recuperaron embriones transferibles (Cuadro 14).

El promedio de embriones colectados en el presente estudio es superiores a 3.8 ± 4.0 encontrado por Rosnina *et al*, (1992), 2.0 ± 1.4 por Armstrong *et al*, (1983a) y 2.5 ± 4.02 por Mahmood *et al*, (1991) y resultó ser inferior a los resultados obtenidos por Borque *et al*, (1993) y por Armstrong *et al*, (1982a), quienes tuvieron en promedio $5. \pm 1.08$ y 8.5 ± 1.0 embriones recuperados respectivamente, bajo esquemas de superovulación y técnicas de lavado similares, a excepción de los tratamientos con GnRH y hCG.

El promedio de embriones transferibles obtenido en el presente estudio (Cuadro 15) resultó ser similar a lo encontrado por Goel y Agrawal (1990) quienes al superovular con 750 UI de eCG utilizando la misma técnica de colección, recuperaron un promedio de 3 embriones transferibles y resulta ser inferior a lo encontrado por Borque *et al*, (1993) superovulando con 1000 UI de eCG (5 ± 1.08 embriones colectados).

El grupo GnRH fue el que tuvo más embriones totales, más embriones transferibles, más cuerpos lúteos buenos y mayores concentraciones de progesterona (Cuadros 9,11 y 15), todo lo cual concuerda con lo encontrado por Armstrong *et al*, (1987), quienes mencionan que del 75% de los animales que mantuvieron cuerpos lúteos se recuperan embriones, mientras que sólo se recuperaron embriones del 25% de los animales que no mantuvieron cuerpos lúteos.

VI CONCLUSIONES

En el presente trabajo se concluye que el tratamiento tanto con hCG como con GnRH 84 horas después del inicio del estro reducen la incidencia de regresión prematura de cuerpos lúteos en cabras superovuladas. Además, el tratamiento constituye un estímulo extra sobre la producción de progesterona debido a la inducción de luteinización u ovulación de folículos presentes después de la ovulación. Al permitir que más animales lleguen al día de la colección de embriones con cuerpos lúteos funcionales, los tratamientos pueden resultar en la recuperación de un mayor número de embriones totales y de embriones transferibles, sin embargo, la respuesta a los tratamientos es variable ya que en el primer experimento los mayores efectos se encontraron con el tratamiento de hCG, mientras que en el segundo experimento el GnRH fue más efectivo. Además en todos los casos se encontraron animales que sufrieron regresión prematura del cuerpo lúteo a pesar de haber sido tratados con hCG o GnRH. Esta variabilidad indica la necesidad de realizar más investigación sobre el tema especialmente en relación a los factores que pueden afectar la respuesta a los tratamientos.

VII LITERATURA CITADA

Alila, H.W. and Hansel, W.: Origin of different cell types in the bovine corpus luteum as characterized by specific monoclonal antibodies. *Biol. Reprod.* 31: 10-15 (1984).

Armstrong D.T., Pfitzner A.P. and Seamark, R.F.: Ovarian responses and embryo survival in goats following superovulation and embryo transfer. *Theriogenology*. 17:76 (abstr 1) (1982a).

Armstrong D.T., Pfitzner A.P., Porter K.J., Warnes G.M., Janson P.O. and Seamark R.F.: Ovarian response of anoestrous goats to stimulation with pregnant mare serum gonadotrophin. *Anim. Reprod. Sci.* 5:15-23 (1982b).

Armstrong D.T., Pfitzner A.P., Warnes G.M. and Seamark R.F.: Superovulation treatments and embryo transfer in Angora goats. *J. Reprod. Fert.* 67:403-410 (1983a).

Armstrong D.T., Pfitzner A.P., Warnes G.M., Ralph M.M. and Seamark R.F.: Endocrine responses of goats after induction of superovulation with PMSG and FSH. *J. Reprod. Fert.* 67:395-401 (1983b).

Armstrong, D.T. and Evans, B.: Factors influencing success of embryo transfer in sheep and goats. *Theriogenology* 19: 31-42 (1983)

Armstrong, D.T., Kiehm, D.J., Warnes, G.M. and Seamark, R.F.: Corpus Luteum (CL) Failure and embryonic loss in superovulated goats. *Theriogenology* 27:207 (abstr.) (1987).

Ashworth, C.J. and Bazer, F.W.: Changes in ovine conceptus and endometrial function following asynchronous embryo transfer or administration of progesterone. *Biol. Reprod.* 40:2 425-433 (1989).

Baird, D.T.: The ovary. In: Austin C.R., Short, R.V., (e.d.s.): *Reproduction in Mammals*, 2nd. edition, Cambridge, England: Cambridge University Press. pp 91-114 (1984)

Baird, D.T., Campbell, B.K., Mann, G.E. and Mc Neilly, A.S.: Inhibin and oestradiol in the control of FSH secretion in the sheep. *J. Reprod. Fert. suppl.* 43:125-138 (1991).

Battye K.M., Fairclough R.J., Cameron A.W.N. and Trounson A.O.: Evidence for prostaglandin involvement in early luteal regression of the superovulated nanny goat (*Capra hircus*). *J. Reprod. Fert.* 84:425-430 (1988).

Bazer, F.W., Thatcher W.W., Hansen P.J., Mirando, M.A., Ott, T.L. and Plante, C.; Physiological mechanisms of pregnancy recognition in ruminants. *J. Reprod. Fert. suppl.* 43:39-47 (1991)

Bessoudo, E., Davies, L., Coonrod, S., Gomez, J. and Kraemer, D.C.: Non-surgical collection of caprine embryos under commercial quarantine conditions. *Theriogenology*. 29:221 (abstr.) (1988).

Borque, C., Pintado, B., Pérez, B., Gutiérrez, A., Muñoz, I. and Mateos, E.: Progesterone levels in superovulated Murciana goats with or without successful embryo collection. *Theriogenology* 39:192 (abstr.) (1993).

Braden, T.D., Gambon, T. and Niswender, G.D.: Effects of prostaglandin F₂alpha induced luteolysis on the populations of cells in the ovine corpus luteum. *Biol. Reprod.* 39:245-253 (1988).

Braden, T.D., King, M.E., Odde K.G., and Niswender, G.D.: Functional and morphologic characteristics of the first corpus luteum formed after parturition in ewes. *J. Reprod. Fert.* 86:525-533 (1989).

Burcher, R.L., Collins, W.E. and Fugo N.W.: Plasma concentrations of LH, FSH, Prolactin, progesterone and estradiol-17b throughout the 4-day estrous cycle of the rat. *Endocrinology* 96: 1704-1708 (1974).

Burgess, K.M., Ralph, M.M. Jenkin, G. and Thorburn, G.D.: Effect of oxytocin and estradiol on uterine prostaglandin release in nonpregnant and early-pregnant ewes. *Biol. of Reprod.* 42:822-833 (1990).

Burke, C.R., Mihm, M., Macmillan, K.L. and Roche, J.F: Some effects of prematurely elevated concentrations of progesterone on luteal and follicular characteristics during the oestrous cycle in heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 35:27-39 (1994).

Cameron A.W.N. and Batt P.A.:PMSG may directly stimulate ovulation in female goats. *Anim. Reprod. Sci.* 25:233-239 (1991).

Cameron A.W.N., Battye K.M. and Trounson A.O.: Time of ovulation in goat (*Capra hircus*) induced to superovulate with PMSG. *J. Reprod. Fert.* 83:747-752 (1988).

Camp, J.C., Wildt, D.E., Howard, P.K., Stuart, L.D. and Chakraborty, P.K.: Ovarian activity during normal and abnormal length estrous cycles in the goat. *Biol. Reprod.* 28: 673-681. (1983).

Campbell, B.K., Mann, G.E., Mc Neilly, A.S. and Baird, D.T.: Pulsatile secretion of inhibin oestradiol and androstenedione by the ovary of the sheep during the oestrous cycle *J. Endocr.* 125: 385-393 (1990)

Cavender, J.L. and Murdoch, W.J.: Morphological studies of the microcirculatory system of preovulatory ovine follicles. *Biol. Reprod.* 39: 989 (abstr.) (1988).

Cerbón, G.J.: Recuperación de embriones en ovejas superovuladas inseminadas intrauterinamente o por monta natural. Tesis Licenciatura Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., (1995).

Compton, M.M., Haskill, J.S., Cidlowski, J.A.: Analysis of glucocorticoid actions on rat thymocyte desoxyribonucleic acid by fluorescence-activated flow cytometry. *Endocrinology* 122: 2158-2164 (1988).

Dalley R.A., Butcher, R.L., Inskip, E.K. and Lewis, P.E.: Association of short luteal phases with follicular development in sheep and cows. Bulletin 706T August 1992. Agricultural and Forestry Experiment Station West Virginia University.

Diekman, M.A., O'Callaghan, P., Nett, T.M., and Niswender, G.D.: Effect of prostaglandin F₂α on the numbers of LH receptors in ovine corpora lutea. *Biol. Reprod.* 19: 1010-1013 (1978).

Doidoje S.V., Bakshi S.A., Pargaonkar D.R. and Markandeya N.M.: Studies on synchronization of oestrus, superovulation and recovery of embryos in goats. *Ind.J. Anim. Sci.* 62(9):846-848 (1992).

Dorn, C.G., Wolfe, B.A., Bessoudo, E. and Kraemer, D.C.: Follicular detection in goats by ultrasonography. *Theriogenology* 31:185 (abstr.) (1989).

Dott H.M., Hay M.F., Cran D.G. and Moor R.M.: Effect of exogenous gonadotrophin (PMSG) on the antral follicle population in the sheep. *J. Reprod. Fert.* 56:683-689. (1979).

Driancourt, M.A., Fry, R.C., Clarke, I.J. and Cahill, L.P.: Follicular growth and regression during the 8 days after hypophysectomy in sheep. *J. Reprod. Fert.* 79: 635-644 (1987).

Driancourt M.A., Bodin L., Boomarov O., Thimonier J., and Elsen J.M.: Number of mature follicles ovulating after a challenge of human chronic gonadotropin in different breeds of sheep at different chorionic physiological stages. *J. Anim. Sci.* 68:719-724 (1990).

Driancourt M.A.: Follicular dynamics in sheep and cattle. *Theriogenology*. 35: 55-79 (1991).

Driancourt, M.A. and Fry, R.L.: Differentiation of ovulatory follicles in sheep *J. Anim. Sci* 66(2) 9-20 (1988).

Flores-Foxworth G., McBride B.M., Kraemer D.C., Nuti L.C.: A comparison between laparoscopic and transcervical embryo collection and transfer in goats. *Theriogenology* 37:213 (abstr.) (1992).

Flint, A.P.F., Sheldrick, E.L., Theodosis, D.T. and Wooding, F.B.P.: Ovarian peptides: Role of luteal oxytocin in the control of estrous cyclicity in ruminants. *J. Anim. Sci.* 62: 62-71 (1986).

Foote, R.H. and Ellington, J.E.: Is a superovulated oocyte normal? *Theriogenology* 29:111-123 (1988).

Hunter, M.G., Southee, J.A., McLeod, B.J. and Haresing, W.: Progesterone pretreatment has a direct effect on GnRH-induced preovulatory follicles to determine their ability to develop into normal corpora lutea in anoestrous ewes. *J. Reprod. Fert.* 76: 349-363 (1986).

García C.J., Cervantes V. y De León T. M.L.: Transferencia de embriones en cabras usando naloxona como ovulador. *IX Congreso Nacional Caprino* :83-86 (Sept 1992).

García, E.: Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México, 1973.

Garverick, H.A., Zollers, W.G. and Smith, M.F.: Mechanisms associated with corpus luteum lifespan in animals having normal or subnormal luteal function. *Anim. Reprod. Sci.* 28:111-124 (1992)

Gilbert D. E., Coonrod, S.A., Whiting C.J. and Pashen R.L.: Comparison of a progesterone intravaginal device (CIDR TM) with flunixin meglumine (finadine TM) for reducing the effects of corpora lutea regression in the goat. *Theriogenology* 33:230 (abstr.) (1990).

Ginther, O.J. and Kot, K.: Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. *Theriogenology* 42:987-1001 (1994).

- Goel, A.K. and Agrawal, K.P.: Superovulation and embryo collection in Jamunapari goats. *Theriogenology*. 33: 232 (Abstr.) (1990).
- Grummer, R.R. and Carroll, D.J.: A review of lipoprotein cholesterol metabolism: importance to ovarian function. *J. Anim. Sci.* 66: 3160-3173 (1988).
- Hafez, E.S.E.: Reproducción e Inseminación Artificial en Animales Domésticos, 5ta. edición, Interamericana Mc Graw-Hill, México 1987 pp. 79,101,549
- Hansel, W., Alila, H.W., David, J.P. and Milvae, R.A.: Differential origin and control mechanisms in small and large bovine luteal cells. *J. Reprod. Fert.* 43: 77 (abstr.) (1991).
- Hawk, H.W.: Gamete transport in the superovulated cow. *Theriogenology* 29:125-142 (1988).
- Henderson, K.M., Prisk, M. D., Hudson, N., Ball, K., Mc Natty, K.P., Lun, S., Heath, D., Kieboom, L.E. and MC Diarmid, J.: Use of the bovine follicular fluid to increase ovulation rate or prevent ovulation in sheep. *J. Reprod. Fert* 76:623-635 (1986).
- Hixon, J.E. and Flint, A.P.: Effects of a luteolytic dose of oestradiol benzoate on uterine oxytocin receptor concentrations, phosphoinositidine turnover and prostaglandin F2 alfa secretion in sheep. *J. Reprod. Fert.* 79: 457-467 (1987).
- Hoyer, P.B. and Marion, S.L.: Influence of agents that affect intracellular calcium regulation on progesterone secretion in large and small luteal cells of the sheep. *J. Reprod. Fert.* 86:445-455 (1989).
- Hunter, M.G.: Characteristics and causes of the inadequate corpus luteum. *J. Reprod. Fertil.* suppl. 43: 91-99 (1991).
- Inskip, E.K., Braden, T.D., Lewis, P.E., García-Winder, M. and Niswender, G.D.: Receptors of luteinizing hormone and follicle stimulation hormone in largest follicles of post-partum beef cows. *Biol. Reprod.* 38:587-591 (1988).
- Jablonka-Shariff, A., Grazul-Bilska, A.T., Redmer, D.A. and Reynolds, L.P.: Growth and cellular proliferation of ovine corpora lutea throughout the estrous cycle. *Endocrinology* 133: 1871 (abstr.) (1993).
- Jarrell V.L. and Dziuk P.J.: Effect of number of corpora lutea and fetuses on concentrations of progesterone in blood of goats. *J. Anim. Sci.* 69:770-773 (1991).
- Knight, P.G.: Identification and purification of inhibin and inhibin-related proteins *J. Reprod. Fert. Suppl* 43: 111-123 (1991).
- Krisher R.L., Gwazdauskas F.C., Page R.L., Russell C.G., Canseco, R.S., Sparks, A.E.T. and Velandar, W.H.: Ovulation rate, zygote recovery and follicular populations in FSH-superovulated goats treated with PGF2alfa and/or GnRH. *Theriogenology* 41: 491-498 (1994).
- Kumar J., Osborn J.C., Cameron A.W.N. and Trounson A.O.: Follicular steroidogenesis and oocyte maturation after superovulation of goats (*Capra hircus*) with gonadotrophins. *J. Reprod. Fert.* 95:371-383 (1992).
- Lau T.M. Kerton, D.J., Gow, C.B. and Fairclough, R.J.: Role of progesterone in the control of endometrial oxytocin receptors at luteolysis in sheep. *J. Reprod. Fert.* 98: 229-223 (1993).

Lemon M. and Lorr, M.: Steroid release in vitro by two luteal cell types in the corpus luteum of the pregnant sow. *J. Endocrinology* 72:351-359 (1977).

Linder, G.M. and Raymond W.W.: Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology* 20:407-416 (1983).

Lutz S.L., Smith, M.F., Keisler, D.H. and Garverick H. A.: Effect of constant infusion of oxytocin on luteal lifespan and oxytocin-induced release of prostaglandin F₂alpha in heifers. *Domestic Animal Endocrinology* 573-585 (1991)

Mahmood S., Koul G.L. and Biswas J.C.: Comparative efficacy of FSH-P and PMSG on superovulation in Pashmina goats. *Theriogenology* 35:1191-1196 (1991).

Martin, G.B., Taylor, P. L. and Mc Neilly, A.S.: Effect of small doses of bovine follicular fluid on the tonic secretion of gonadotrophins in the ewe *J. Endocrinology* 114: 73-79 (1987).

McCracken, J.A., Schams, W. and Okulicz, W.C.: Hormone receptor control of pulsatile secretion of PGF-2-alfa from the ovine uterus during luteolysis and its abrogation during early pregnancy. *Anim. Reprod. Sci.* 7:31-55 (1984).

Mc Neilly, A.S., Crow, W., Brooks, J. and Evans, G.: Luteinizing hormone pulses, follicle-stimulating hormone and control of follicle selection in sheep. *J. Reprod. Fert.* 45: 5-19 (1992).

Meidan, R., Girsh, E., Blum, O. and Aberdam, E.: In vitro differentiation of bovine theca and granulosa cells into small and large luteal-like cells: Morphological and functional characteristics. *Biol. Reprod.* 43:913 (1990).

Moenter, S.M., Caraty, A. and Karsch, F.J.: The estradiol-induced surge of gonadotrophin releasing hormone in the ewe. *Endocrinology* 127: 1375-1484 (1990).

Navarro Fierro, R.: Introducción a la Bioestadística. Análisis de variables binarias *Mc Graw Hill* (1988).

Nett, P.M., McClellan, M.A. and Niswender, G.D.: Effects of prostaglandins on the ovine corpus luteum : Blood flow, secretion of progesterone and morphology. *Biol. Reprod.* 15:66-78 (1976).

Niswender, G. D., Juengel, J.L., Mc Guire, W. J., Belfiore, C. J. and Wiltbank, M. C.: Luteal function: the estrus cycle and early pregnancy. *Biol. Reprod.* 50:239-247 (1994).

Oshea, J.D., Cran, D.G. and Hay, M.F.: Fate of the theca interna following ovulation in the ewe. *Cell Tissue Res.* 210: 305 (abstr.)(1980).

Ottobre J.S., Lewis G.S., Thayne W.V. and Inskeep E.K.: Mechanism by which progesterone shortens the estrous cycle of the ewe. *Biol. Rep.* 23:1046-1033. (1980).

Pathak, M.M. Patel A.V., Jaiswal, R.S. and Mehta, V.M.: Circulating levels of progesterone and oestrogen in cyclic goats. *Indian Journal of Animal Sciences* 60: 836-837 (1990)

Pendleton R.J., Youngs C.R., Rorie R.W., Pool S.H., Memon M.A. and Godke R.A.: Follicle stimulating hormone versus pregnant mare serum gonadotropin for superovulation of dairy goats. *Small Ruminant Research* 8:217-224 (1992a).

Pendleton R.J., Youngs C.R., Rorie R.W., Pool S.H., Memon M.A., and Godke R.A.: Comparison of fluorogestone acetate sponges with norgestomet implants for induction of oestrus and ovulation in anestrus dairy goats. *Small Ruminant Research* 8:269-273 (1992b).

Pratt B.R., Berardinelli J.G., Stevens L.P., Inskoop E.K.: Induced corpora lutea in the postpartum beef cow. I. Comparison of gonadotropin releasing hormone and human chorionic gonadotropin and effects of progestogen and estrogen. *J. Anim. Sci.* 54:822-829 (1982).

Price C.A. and Webb R.: Ovarian response to hCG treatment during the oestrous cycle in heifers. *J. Reprod. Fert.* 86:303-308 (1989)

Rosnina Y., Jainudeen M.R., Nihayah M.: Superovulation and egg recovery in goats in the tropics. *Vet. Rec.* 130:97-99 (1992).

Scaramuzzi, R.J., Adams, N.R., Baird, D.T., Cambell, B.K., Dowing, J.A., Findlay, J.K., Shea, B.F.: Evaluating the bovine embryo. *Theriogenology* 15: 13-42 (1981).

Henderson, K.M., Martin, K.P., McNatty, K.P., Mc Neilly, A.S. and Tsonis, C.D.: A model for follicle secretion and the determination of ovulation rate in ewe. *Reprod. Fert. Der.* 5: 459-478 (1993).

Schiewe, M. C., Bush, M., Stuart, L.S. and Wildt, D.E.: Laparoscopic embryo transfer in domestic sheep: a preliminar study *Theriogenology* 22: 675-682 (1894).

Schiewe, M.C., Howard, J.G., Goodrowe, K.L., Stuart, L.D. and Wildt, D.E.: Human Menopausal Gonadotropin induces ovulation in sheep, but embryo recovery after prostaglandin F₂ α synchronization is compromised by premature luteal regression. *Theriogenology* 34:469-486 (1990).

Schomberg D.W., Coudert S.P., and Short R.V.: Effect of bovine luteinizing hormone and human chorionic gonadotrophin on the bovine corpus luteum in vivo. *J. Reprod. Fert.* 14:277-285 (1967).

Short, R.E., Staigmiller, R.B. and Bellows, R.A.: Hormonal treatments to induce ovulation. In: *11th International Congress Animal Reproduction and Artificial Insemination Dublin, Irlanda* 5:146-154 (1988).

Silvia, W.J., Lewis, G.S., McCracken, J.A., Thatcher, W.W. and Wilson, Jr.L. Hormonal regulation of uterin secretion of prostaglandin F₂ α during luteolisis in ruminants. *Biol. Reprod.* 45:655-663 (1991).

Silvia, W.J. and Raw, R.E.: Regulation of pulsatil secretion of prostaglandin F₂ alfa from the ovine uterus by ovarian steroids. *J. Reprod. Fert.* 98:341-347 (1993).

Sirois, J. and Fortune, J.E.: Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real time ultrasonography. *Biol. Reprod.* 39:308-319 (1988).

Smith, M.F., Mc Intush, E.W. and Smith, G.W.: Mechanisms associated with corpus luteum development. *J. Anim. Sci.* 72:1857-1872 (1994).

Srikandakumar, A., Ingraham, R.H., Ellsworth, M., Archbald, L.F., Liao, A. and Godke, R.A.: Comparison of a solid phase no-extraction radioimmunoassay for progesterone with and extraction assay for monitoring luteal function in the mare, bitch and cow *Theriogenology* 26: 779-793 (1986).

Stefani, J.J., Palha, M.D.C., Christman, L., Rosa, J.M., Silveira, M.C. and Rodrigues, J.L.: Laparoscopic versus surgical transfer of ovine embryos. *Theriogenology* 33: 328 (1990).

Stubbings, R.B., Bosu, W.T.K., Barker, C.A.V. and King, G.J.: Serum progesterone concentrations associated with superovulation and premature corpus luteum failure in dairy goats. *Can. J. Vet. Res.* 50: 369-373 (1986).

Taneja M., Pawshe D.H., Guron C.S., Singh G., Totey S.M. and Talwar G.P.: Superovulation of Barbari goats with follitropin: The effect of dose. *Theriogenology* 35:280 (abstr.) (1991).

Tervit, H.R., Goold, P.G., McKenzie, R.D. and Clarkson, D.J.: Techniques and success of embryo transfer in Angora goats. *New Zealand Veterinary Journal* 31: 67-60 (1983).

Wathes, D.C. and Denning-Kendall, P.A.: Control of synthesis and secretion of ovarian oxytocin in ruminants. *J. Reprod. Fert.* 45:39-52 (1992).

White, L.M., Keisler, D.H., Dailey, R.A. and Inskeep, E.K.: Characterization of ovine follicles destined to form subfunctional corpora lutea. *J. Anim. Sci.* 65: 1595-1601 (1987).

Wiltbank, M.C. and Niswender, G.D.: Functional aspects of differentiation and degeneration of the steroidogenic cells of the corpus luteum in domestic ruminants. *Animal Reprod. Sci.* 28:103-119 (1992).

Wolfenson, D., Thatcher, W.W., Savio, J.D., Badinga, L. and Lucy M.C.: The effect of a GnRH analogue on the dynamics of follicular development and synchronization of estrus in lactating cyclic dairy cows. *Theriogenology* 42: 633-644 (1994).

Zarco, Q. L., Stanbenfeldt, G. H., Quirke, J.F., Kindahl, H. and Bradford, G.E.: Release of prostaglandin F2 alpha and the timing of events associated with luteolysis in ewes with oestrous cycles of different lengths. *J. Reprod. Fert.* 83: 517-526 (1988a)

Zarco, Q. L., Stabenfeldt, G.H., Basu, S., Bradford, G.E. and Kindahl, H.: Modification of prostaglandin F2 alpha synthesis and release in the ewe during the initial establishment of pregnancy. *J. Reprod. Fert.* 83: 527-536 (1988).

Zhang, J., Weston, P.G. and Hixon, J.E.: Role of progesterone and oestradiol in the regulation of uterine oxytocin receptors in ewes. *J. Reprod. Fert.* 94: 395-404 (1992).