



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA
PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL**

**IMPACTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE UN PROGESTÁGENO
(REGUMATE) SOBRE EL CRECIMIENTO FOLICULAR, LA FUNCIÓN LÚTEA
Y LA PROLIFICIDAD EN CERDAS**

TESIS

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS**

PRESENTA:

OLIVA SANTOS ROJAS

TUTOR PRINCIPAL:

**DR. CÉSAR A. MEJÍA GUADARRAMA
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN, UNAM**

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:

**DR. MARCO A. HERRADORA LOZANO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, UNAM**

**DR. HÉCTOR R. VERA ÁVILA
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN, UNAM**

Cuatitlán Izcalli, Edo. Méx. Octubre 2014



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 la Universidad Nacional Autónoma de México por la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada para la realización de mis estudios.

Al INIFAP por permitirme utilizar sus instalaciones para realizar el experimento que sirvió como tesis de maestría.

Al Dr. César A. Mejía Guadarrama por su gran apoyo, por ser quién me dirigió no sólo en la parte experimental sino durante todo el posgrado.

Al Dr. Héctor Vera Ávila por su apoyo y sus enseñanzas.

Al Dr. Marco A. Herradora por ser parte de mi comité tutorial y apoyo desde antes del posgrado.

A los doctores Héctor Jiménez Severiano y Eugenio Villagómez por brindarme su apoyo en la realización del trabajo experimental y por sus enseñanzas.

A los doctores: Ma. Elena Trujillo Ortega, Roberto Martínez Gamba y José A. Medrano Hernández, por sus valiosos comentarios para el presente trabajo.

IMPACTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE UN PROGESTÁGENO (REGUMATE) SOBRE EL CRECIMIENTO FOLICULAR, LA FUNCIÓN LÚTEA Y LA PROLIFICIDAD EN CERDAS.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue determinar si la aplicación del progestágeno (Regumate), además de sincronizar el estro, modifica la tasa ovulatoria, la función lútea y la supervivencia embrionaria en cerdas de reemplazo y evaluar si el tratamiento con el progestágeno al final de la lactación provoca un crecimiento folicular más homogéneo al momento del destete, modifica la función lútea y aumenta el tamaño de camada al parto subsecuente en cerdas multíparas. El trabajo se dividió en dos experimentos, en el primero se utilizaron 34 cerdas de reemplazo. Las cerdas fueron asignadas aleatoriamente a uno de dos tratamientos (grupo control y grupo experimental) al grupo experimental se le administró 20mg del Regumate en 500 gr de alimento en la primera comida del día durante 18 días. En el segundo experimento se utilizaron 84 cerdas multíparas. Al día 21 de lactación se asignaron aleatoriamente a uno de dos tratamientos (grupo experimental y grupo control), al grupo experimental se le administró 20mg de Regumate durante 7 días en 500gr de alimento en la primera comida del día, al final de la lactación. Las variables evaluadas fueron: de producción (peso de las cerdas y de la camada, espesor de músculo y grasa dorsal), concentraciones de estradiol y progesterona, número y peso de folículos y cuerpos lúteos además de número de embriones. Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza para un diseño de bloques completos al azar. Las concentraciones de estradiol y progesterona fueron analizadas como mediciones repetidas. El número y peso folículos y de cuerpos lúteos, número de embriones fueron analizados utilizando PROC GLM. El porcentaje de cerdas en estro y la tasa de gestación fueron analizados mediante la Prueba Exacta de Fisher. En el primer experimento, se encontró diferencia significativa ($P < 0.01$) en la tasa de ovulación, siendo mayor en el grupo experimental, en el número de embriones totales se encontró diferencia significativa ($P = 0.05$) siendo mayor en el grupo experimental. A partir del inicio del estro y hasta las 36 hrs. posteriores a éste, las cerdas control mostraron concentraciones plasmáticas de progesterona más elevadas ($P = 0.01$) y de estradiol más bajas ($P = 0.01$) en comparación con las cerdas del grupo experimental. Las concentraciones de progesterona entre los días 2 al 10 fueron menores en el grupo experimental ($P = 0.01$). En el segundo experimento, el número de lechones nacidos totales y el número de lechones nacidos vivos no fue diferente ($P > 0.70$) entre tratamientos. Las concentraciones de progesterona fueron más elevadas en las cerdas del grupo control que en el grupo experimental ($P = 0.02$), mientras que en las concentraciones de estradiol no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.35$). En el número total de cuerpos lúteos no se encontraron diferencias ($P > 0.78$). En el peso de los cuerpos lúteos, no encontramos diferencia significativa ($P > 0.37$). No se encontró diferencia ($P > 0.95$), en el tamaño promedio de folículos. Con base en los resultados, podemos concluir que la utilización del progestágeno Regumate previo al inicio de la gestación, sincroniza el crecimiento folicular y provoca la formación de cuerpos lúteos más homogéneos, además de afectar positivamente el desarrollo embrionario en cerdas de reemplazo, no así en las cerdas multíparas donde el tratamiento no tuvo efecto.

Palabras clave: Regumate, tasa ovulatoria, función lútea, crecimiento folicular, supervivencia embrionaria.

IMPACT OF THE ADMINISTRATION OF A PROGESTAGEN (REGUMATE) ON FOLLICULAR GROWTH, LUTEAL FUNCTION AND LITTER SIZE IN SOWS.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine whether the application of progestagen (Regumate) synchronizes estrus, ovulation rate changes, luteal function and embryonic survival in gilts, and to assess whether the treatment with progestagen at the end of the lactation causes a more homogeneous follicular growth at weaning, modifying luteal function and increasing the subsequent litter size at birth in sows. The work was divided in two experiments. In the first 34 gilts were used. Sows were randomly assigned to one of two treatments (control group and experimental group). The experimental group was given 20mg of Regumate in 500 g of food in the first meal of the day for 18 days. In the second experiment, 84 sows were used. At day 21 of lactation, they were randomly assigned to one of two treatments (experimental group and control group). The experimental group was given 20mg of Regumate for 7 days in 500g of food in the first meal of the day at the end of lactation. The variables evaluated were: production (weight of sows and litter, thickness of muscle and back fat), estradiol and progesterone concentrations, number and weight of follicles and corpora lutea in addition to number of embryos. The results were submitted to analysis of variance for randomized complete blocks. The concentrations of estradiol and progesterone were analyzed in repeated measurements. The number and weight follicles and corpora lutea and number of embryos were analyzed using PROC GLM. The percentage of sows in estrus and pregnancy rates was analyzed by Fisher's Exact Test. In the first experiment, a significant difference ($P < 0.01$) was found in ovulation rate, being higher in the experimental group. A significant difference in the total number of embryos ($P = 0.05$) was found to be higher in the experimental group from the onset of estrus and up to 36 h. Subsequently to this, the control sows showed higher plasma concentrations of progesterone ($P = 0.01$) and estradiol lower ($P = 0.01$) compared to the sows of the experimental group. The progesterone concentrations between days 2 to 10 were lower in the experimental group ($P = 0.01$). In the second experiment, the total number of piglets born and number of piglets born alive was not different ($P > 0.70$) between treatments. Progesterone concentrations were higher in the control sows in the experimental group ($P = 0.02$), whereas estradiol concentrations were not significantly different ($P > 0.35$) found. No differences were found in the total number of corpora lutea ($P > 0.78$). No significant difference was found in the weight of the corpora lutea ($P > 0.37$). No difference ($P > 0.95$) was found in the average size of follicles. Based on the results, we can conclude that the use of progestin Regumate prior to the start of pregnancy, synchronizes follicular growth and causes the formation of more homogeneous corpora lutea. It also positively affects embryonic development in gilts, but not in multiparous sows where treatment had no effect.

Keywords: Regumate, ovulation rate, luteal function, follicular growth, embryonic survival

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	II
RESUMEN	III
ABSTRACT	IV
Lista de Cuadros y Figuras.	VII
INTRODUCCIÓN	1
II REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. El eje gonadotropo en la cerda.....	3
2.1.1 Hipotálamo-hipófisis.	3
2.1.1.1 Hormonas hipotalámicas y su función.....	4
2.1.1.3 Comunicación hipotálamo-hipófisis.....	5
2.1.1.4 Comunicación ovarios-unidad hipotálamo-hipófisis.....	6
2.2. Ovarios.....	7
2.2.1. Funciones del ovario.	7
2.2.2. Hormonas ováricas y su función	7
2.3 Crecimiento folicular en la cerda.	10
2.3.1 Crecimiento folicular en cerdas peri puberales.	11
2.3.2 Crecimiento folicular en cerdas cíclicas.....	12
2.3.3. Crecimiento folicular en cerdas gestantes.	13
2.3.4 Crecimiento folicular durante la lactación.	13
2.3.5 Crecimiento Folicular al destete.	14
2.4 Ovulación y desarrollo temprano de los cuerpos lúteos.....	16
2.4.1. Eventos fisiológicos asociados a la ovulación	16
2.4.2. Formación del cuerpo lúteo.....	17
2.5. Desarrollo embrionario temprano y reconocimiento de la gestación en la cerda.	18
2.5.1. Reconocimiento de la gestación.	18

2.5.2. Embrión: cambios morfológicos y secreción de sustancias.	19
2.5.3. Útero: cambios morfológicos y secreción de sustancias.	20
2.5.4. Comunicación materno-embriónica.	20
2.6 Implantación y placentación en la cerda	22
2.6.1. Eventos fisiológicos asociados a la implantación	22
2.6.2. Tipo, estructura y función de la placenta.....	22
2.7 Sincronización del ciclo estral de la cerda por métodos hormonales.	23
2.7.1. Regímenes basados en acortar la vida del cuerpo lúteo (CL).	23
2.7.2. Regímenes basados en simular la función endocrina del CL.	24
2.8 El progestágeno Altrenogest (Regumate).	24
2.8.1. Estructura química	25
2.8.2. Metabolismo.....	25
2.8.3 Excreción.....	25
2.9 Efectos de Regumate sobre el ciclo estral de la cerda.	25
2.10. Otros efectos potenciales de Regumate sobre la eficiencia reproductiva de la cerda.	26
2.10.1. Desarrollo folicular y Regumate.	26
2.10.2. Supervivencia embrionaria y Regumate.	26
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	27
4. MATERIAL Y MÉTODOS	28
5. RESULTADOS.....	35
6. DISCUSIÓN	46
7. CONCLUSIONES	52
8. BIBLIOGRAFÍA	53

Lista de Cuadros y Figuras

Cuadro 1. Variables de producción cerdas de reemplazo (experimento 1).....	35
Cuadro 2. Número, peso y tamaño de cuerpos lúteos en cerdas de reemplazo (experimento 1).....	36
Cuadro 3. Número de embriones en cerdas de reemplazo (experimento 1).....	39
Cuadro 4. Variables de producción en cerdas multíparas (experimento 2).....	40
Cuadro 5. Número de folículos en cerdas multíparas (experimento 2).....	41
Cuadro 6. Número de cuerpos lúteos en cerdas multíparas (experimento 2).....	42
Cuadro 7. Número de lechones nacidos en cerdas multíparas (experimento 2)...	43
Figura 1. Crecimiento folicular al destete.....	16
Figura 2. Concentraciones de progesterona, mediciones cada 12 horas en cerdas de reemplazo (experimento 1).....	37
Figura 3. Concentraciones de progesterona, mediciones cada 24 horas en cerdas de reemplazo (experimento 1).....	37
Figura 4. Concentraciones de estradiol, mediciones cada 12 horas en cerdas de reemplazo (Experimento 1).....	38
Figura 5. Porcentaje de gestación en cerdas de reemplazo (experimento 1).....	39
Figura 6. Porcentaje de gestación en cerdas multíparas (experimento 2).....	42
Figura 7. Concentraciones de progesterona, mediciones en los días de estro en cerdas multíparas (experimento 2).....	44
Figura 8. Concentraciones de progesterona, mediciones un día antes del destete hasta finalizar el estro y/o hasta los 9 días posdestete en cerdas multíparas (experimento 2).....	44
Figura 9. Concentraciones de estradiol, mediciones en los días de estro en cerdas multíparas (experimento 2).....	45
Figura 10. Concentraciones de estradiol, mediciones un día antes del destete hasta finalizar el estro y/o hasta los 9 días posdestete en cerdas multíparas (experimento2).....	45

1. INTRODUCCIÓN

La industria porcina ha sufrido grandes cambios durante las últimas décadas, los cuales son el resultado de las demandas de la población en cuanto a la cantidad y calidad de los alimentos que consume. De manera que ésta ha tenido que enfrentar grandes desafíos para poder incrementar la productividad en las granjas porcinas. Uno de éstos desafíos y de los más importantes es aumentar la productividad de la cerda reproductora. La productividad de la cerda se determina a través del número de lechones que es capaz de destetar durante un año. Este índice está conformado por el número de partos al año y por el tamaño de la camada. El número de partos, está determinado por la duración de la gestación y la lactancia además del intervalo destete-estro. A pesar de que el comportamiento reproductivo de las cerdas está influenciado por factores genéticos y medioambientales (nutrición, salud, etc.), existen diferentes alternativas para incrementar las variables reproductivas que se pueden emplear para aumentar la productividad de la cerda como la sincronización de estros, reducción del intervalo destete-estro o aumentar la prolificidad. Una herramienta eficaz para sincronizar el ciclo estral en la cerda es el empleo de sustancias que simulen la función endocrina del cuerpo lúteo. En particular, existe trabajos señalando que el uso de Regumate (altrenogest), el cual es un esteroide sintético que frena el inicio del desarrollo folicular, resulta en una adecuada sincronización del ciclo estral (Martinat – Botté *et al.*, 1989; Martinat – Botté *et a.*, 1990; Soede *et al.*, 2007). Sin embargo, existe poca información sobre los posibles efectos de este progestágeno en la respuesta reproductiva subsiguiente, ya sea en cerdas de reemplazo o en cerdas multíparas. El uso de Regumate en cerdas de reemplazo incrementó ($P < 0.05$) el número de lechones nacidos totales (+0.5 lechones/cerda) y el número de lechones nacidos vivos (+ 0.6 lechones/cerda) al parto subsecuente (Martinat – Botté *et al.*, 1989). Dado que se ha observado una irregularidad en la duración del retorno a estro en las cerdas primerizas después del destete, lo que puede provocar dificultades para mantener la integridad de los grupos de parición en algunas granjas; también se ha probado el uso de Regumate en cerdas recién destetadas. La aplicación de Regumate a partir del destete

durante tres días en cerdas primerizas incrementa ($P= 0.07$) el tamaño de la camada al parto subsecuente (10.1 lechones nacidos totales en las hembras tratadas vs 9.8 lechones en las hembras testigo) y aumenta ($P< 0.04$) el número de lechones nacidos vivos por hembra tratada (+ 1 lechón; Forgerit *et al.*, 1995). Éste incremento en la productividad está asociado a una menor incidencia de folículos quísticos y/o de cuerpos lúteos anormales y un desarrollo embrionario más homogéneo al inicio de la segunda gestación en las cerdas tratadas con Regumate (Martinat- Botté *et al.*, 1995). Si se considera que el crecimiento folicular en las cerdas lactantes se reactiva conforme avanza la lactación y que esto ocasiona que la población folicular al momento del destete sea muy heterogénea (revisado por Lucy *et al.*, 2001), también se podría suponer que iniciar la aplicación de Regumate una semana antes del destete no sólo sincronizaría el retorno en estro posdestete de las hembras, sino que también podría homogenizar la población folicular al momento del destete, favoreciendo así la prolificidad en el parto subsecuente, especialmente en las cerdas primerizas.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 El eje gonadotropo en la cerda.

En la cerda, como en los demás mamíferos, la función de reproducción está bajo el control directo del sistema nervioso central (SNC), encargado de integrar la información sobre diversos factores endógenos (genotipo, estado fisiológico y nutricional, concentración de diversas hormonas, etc.) y exógenos (disponibilidad de alimento, fotoperiodo, temperatura, etc.), de hormonas esteroideas (estradiol, progesterona, etc.) y de hormonas proteicas (inhibina) que se encuentran circulando en el torrente sanguíneo. Por lo tanto, la función reproductiva se encuentra bajo el control de la regulación neuroendocrina, es decir está gobernada por la asociación funcional fisiológica de los sistemas nervioso y endocrino; el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas o eje gonadotropo (Prunier *et al.*, 2000; Knobil, 2006).

2.1.1 Hipotálamo-hipófisis.

El hipotálamo juega un papel primordial en la regulación hormonal de la función reproductiva en las hembras. El folículo destinado a ser ovulado inicia una secuencia coordinada de eventos que controlan el ciclo estral, el cual está regulado por el sistema hipotálamo-hipofisario. El hipotálamo se conecta con la hipófisis a través del sistema porta hipofisario sirviendo éste de conducto para transportar hormonas. El principal factor liberador del hipotálamo que regula la función reproductiva es la GnRH (hormona liberadora de gonadotropinas). Esta hormona actúa sobre los receptores presentes en los gonadotropos de la hipófisis (células productoras de gonadotropinas) y estimula la secreción de LH y FSH. Estas hormonas se liberan en forma coordinada para regular el crecimiento folicular, la ovulación y la vida del cuerpo lúteo. La secreción de LH y FSH por parte de la hipófisis se encuentra regulada por los estrógenos y progestágenos. Cinco estructuras diferentes del hipotálamo están involucradas en el control de la reproducción, incluyen señales que inducen la oleada preovulatoria de gonadotropinas, el núcleo supraquiasmático y el núcleo óptico medial participan en la liberación de la oleada de LH;

el área preóptica medial provee un importante sitio para la integración de señales que controlan el ciclo reproductivo. La eminencia media (EM) es considerada como la zona más importante de liberación de GnRH. En proximidad con la EM está el núcleo arcuato, interviene en la liberación de GnRH por medio del sistema porta (Hunter, 1993; Knobil *et al.*, 1994). Después de la liberación de la GnRH llega a la hipófisis a través del sistema porta. La hipófisis se localiza en la silla turca, una depresión ósea en la base del cerebro. La glándula se divide en tres lóbulos: el anterior, el intermedio y el posterior. Los lóbulos anterior y posterior de la hipófisis secretan diferentes hormonas. El lóbulo anterior libera hormonas que estimulan la función de otras glándulas endocrinas, por ejemplo la hormona adrenocorticotropa o ACTH, que estimula la corteza suprarrenal; la hormona estimulante de la glándula tiroides o tirotropina (TSH) que controla tiroides; la hormona estimulante de los folículos o folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH), que estimulan las glándulas sexuales y la prolactina, que al igual que otras hormonas especiales, influye en la producción de leche (Hunter, 1993 Randall *et al.*,1998; Knobil *et al.*,2006)

2.1.1.1 Hormonas hipotalámicas y su función.

El Sistema Nervioso Central (SNC) regula a nivel hipotalámico la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH). La GnRH es un decapeptido que regula la secreción de las hormonas Folículo Estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH), también conocidas como gonadotropinas (Hafez, 2003; Knobil *et al.*, 2006). La GnRH se libera en forma de pulsos, los cuales son regulados por señales externas al hipotálamo, como las hormonas esteroideas (Schneider *et al.*, 2006). Después de su liberación la GnRH se une a receptores específicos situados exclusivamente en membranas citoplasmáticas de las células gonadotropas. Sin embargo, se han encontrado receptores a esta hormona en gónadas de rata y de humano, en placenta, en tejido adrenal, en algunos tejidos cancerígenos de mama y en el sistema nervioso central (Schneider *et al.*, 2006). La respuesta fisiológica a la unión de la GnRH a las células gonadotropas es la liberación de gonadotropinas (FSH y LH).Además de otras respuestas celulares provocadas por esta

hormona, entre ellas se incluyen: el aumento y/o la disminución en el número de receptores, desensibilización de los gonadotropos y la síntesis de receptores a la GnRH y a las gonadotropinas (Hafez, 2003; Knobil *et al.*, 2006).

2.1.1.2. Hormonas hipofisarias y su función.

La GnRH tiene un patrón de liberación pulsátil, con una frecuencia y amplitud variables según la etapa del ciclo estral. Éste parece ser intrínseco y está controlado por el generador de pulsos localizado en el hipotálamo mediobasal, el cual regula la secreción del decapeptido al integrar señales del medio interno como externo (Schneider *et al.*, 2006). Estos estímulos provienen por un lado de neuromoduladores como el ácido gamma-aminobutírico (GABA) y el glutamato y de las gónadas que actúan de manera indirecta sobre el generador ya que éste no cuenta con receptores para esteroides por lo tanto, se vale de diferentes neuromoduladores y neurotransmisores como noradrenalina, serotonina, dopamina, neuropéptido Y, entre otros, así como señales provenientes de la periferia, tales como la leptina y numerosas citocinas (IL-1 e IL-6 y TNF α) para regular la descarga de gonadotropinas (Hunter, 1993; Knobil, 2006).

En los mamíferos, a cada señal de GnRH que llega por vía portal a las células gonadotropas le corresponde un incremento pulsátil, también en la liberación de gonadotropinas, principalmente de LH (Hunter 1993, Schneider *et al.*, 2006).

2.1.1.3. Comunicación hipotálamo-hipófisis.

Existe influencia por parte del sistema nervioso central (SNC) sobre la función hipofisaria, esta influencia depende de la innervación nerviosa de la hipófisis, que tiene origen en el diencefalo (Knobil, 1994). Se ha descrito la existencia de un sistema porta entre la base del hipotálamo y la hipófisis anterior. Este sistema colecta los productos neurosecretados y los distribuye en las células secretoras de la hipófisis anterior. En este proceso están incluidos numerosos axones provenientes de varios grupos de células del hipotálamo las cuales convergen en la eminencia media. Los capilares del sistema porta – hipofisario son finalmente distribuidos en el interior del lóbulo anterior de la hipófisis. Estas

neurohormonas son transferidas rápidamente por el sistema vascular a las células de la hipófisis, donde finalmente se bloquea o estimula la secreción de las hormonas hipofisarias (Hunter 1993, Fuentes *et al.*, 2006).

2.1.1.4. Comunicación ovarios-unidad hipotálamo-hipófisis.

Las hormonas ováricas regulan la secreción de gonadotropinas (FSH y LH) mediante retroalimentación negativa y/o positiva. El hipotálamo funciona como una interconexión entre el sistema nervioso y el sistema endocrino además desempeña una función importante en la regulación hormonal de la reproducción. Algunas hormonas gonadales inhiben la liberación de LH y FSH tanto en hembras como en machos (retroalimentación negativa), en tanto que otras incrementan la liberación de LH y FSH únicamente en la hembra (retroalimentación positiva). Las concentraciones tónicas de LH y FSH son controladas por retroalimentación negativa desde las gónadas. La concentración tónica de LH en el torrente sanguíneo no es estable ya que muestra oscilaciones alrededor de cada hora. La liberación de LH y FSH, llamada oleada preovulatoria de gonadotropinas, es evidente en la hembra antes de la ovulación. Un aumento en la concentración de estradiol circulante tiene un efecto de retroalimentación positiva en el hipotálamo, induciendo una oleada repentina de liberación de GnRH, la cual se acompaña por la oleada preovulatoria de LH y FSH. Los niveles de estradiol disminuyen después de las oleadas de LH y FSH reduciéndose con esto las manifestaciones del estro (Knobil *et al.*, 1994; Hafez, 2002).

En resumen, los gonadotropos responden a la liberación de GnRH, sintetizando y liberando LH y FSH, las cuales inducen la foliculogénesis, esteroidogénesis, la ovulación y formación del cuerpo lúteo. Los esteroides ováricos ejercen retroalimentación positiva y/o negativa en el hipotálamo y en la hipófisis (Knobil *et al.*, 1994; Randall *et al.*, 1998 y Hafez2002).

2.2 Ovarios.

2.2.1. Funciones del ovario.

Las principales funciones del ovario son la producción cíclica de ovocitos para su fecundación y la producción cíclica de hormonas esteroides con la frecuencia equilibrada para mantener el desarrollo del aparato genital, facilitar la migración del embrión y asegurar su implantación y desarrollo en el útero. La actividad endocrina ovárica está representada principalmente por la producción de tres hormonas: dos esteroides (estrógenos y progesterona) y una proteica (relaxina); se producen otros esteroides, andrógenos y corticoesteroides, éstos están envueltos en el control del desarrollo de los folículos y en el funcionamiento del cuerpo lúteo (Fuentes *et al.*, 2006). El folículo es el compartimento ovárico que le permite llevar a cabo esta doble función de gametogénesis y esteroidogénesis. El folículo, tras la ovulación y liberación del ovocito hacia el oviducto, evoluciona a cuerpo *rubrum* o hemorrágico y después a cuerpo lúteo, produciendo los niveles hormonales necesarios para el mantenimiento de la gestación en el útero. Si no hay gestación o ésta ha finalizado, el cuerpo lúteo evoluciona a cuerpo *albicans* y termina por desaparecer (Falceto *et al.*, 1992; Fuentes *et al.*, 2006; Knobil, 2006).

2.2.2. Hormonas ováricas y su función

Hormonas esteroideas

Estrógenos

El estradiol es el principal estrógeno, mientras que la estrona y el estriol representan otros estrógenos metabólicamente activos. Todos los estrógenos ováricos se producen a partir de precursores androgénicos. De todos los esteroides, los estrógenos tienen el rango más importante de funciones fisiológicas, algunas de estas son:

- 1.-Actuar sobre el SNC para inducir el comportamiento estral en la hembra.
- 2.-Actuar en el útero para aumentar la amplitud y la frecuencia de las contracciones, potencializando los efectos de la oxitocina y la PGF2 α .
- 3.-Desarrollar físicamente los caracteres sexuales secundarios femeninos.

4.-Estimular el crecimiento de los conductos y promover el desarrollo de la glándula mamaria.

5.-Ejercer el control de retroalimentación tanto positiva como negativa en la liberación de LH y FSH a través del hipotálamo. El efecto negativo se da en el centro tónico en el hipotálamo, en ovejas Caraty *et al* (1998) reportan que ambos efectos afectan a nivel del núcleo ventromedial sobre la oleada preovulatoria de GnRH-LH (Hafez, 2002).

Progesterona.

La progesterona (P4) es una hormona esteroide que es sintetizada por el ovario, la cantidad de progesterona secretada depende de la estimulación de gonadotropinas y del estatus fisiológico del ovario, citado por (Peluso, 2006).

El principal tejido blanco de la progesterona son el tracto reproductivo y el eje hipotálamo-hipófisis, en general la acción de la progesterona en el tracto reproductor es prepararlo para la iniciación y el mantenimiento de la gestación.

La progesterona tiene efectos antiestrogénicos en el oviducto donde bloquea la secreción de proteínas, esta secreción es inducida a su vez por el estradiol, e induce la disminución y la suspensión de la actividad secretora del epitelio del oviducto. En el útero la progesterona actúa sobre el endometrio como factor de diferenciación (Cummings *et al.*, 1984).

Durante la fase folicular, los estrógenos inducen la proliferación de células del endometrio, las elevadas concentraciones de progesterona durante la fase lútea inhiben la mitosis en el endometrio. La progesterona también induce la diferenciación estromal, estimula la secreción glandular y las proteínas secretadas por el endometrio. Estas proteínas proveen de un ambiente uterino para soportar el desarrollo embrionario temprano. La progesterona también induce la quietud del miometrio, disminuye la absorción de calcio extracelular que es requerido para la contracción del miometrio (Gordon *et al.*, 2000). La progesterona previene las contracciones uterinas a través del bloqueo de la habilidad del estradiol a inducir a los receptores α -adrenérgicos que causan las contracciones (Gordon *et al.*, 2000).

El ciclo reproductivo también es gobernado, en parte por la progesterona. Las concentraciones circulantes de progesterona son bajas durante la fase folicular, durante este tiempo las concentraciones de estradiol se elevan, éstas estimulan la baja amplitud del patrón de pulsos de LH, de esta manera se impulsa el desarrollo folicular hasta la ovulación (revisado en Lucy *et al.*, 2001). Después de la ovulación, se desarrolla el cuerpo lúteo, las concentraciones de progesterona ahora se encuentran elevadas por lo que es restringida la secreción de LH, mostrando una baja frecuencia y una amplitud alta en el patrón de pulsos.

Otras funciones de la progesterona son: liberación del ovocito maduro, desarrollo y preparación lóbulo- alveolar para la secreción y supresión de leche en glándula mamaria, síntesis de proteínas después del parto, en el sistema nervioso mediador de señales que se requieren para el comportamiento sexual (Dinny *et al.*, 1996). Los efectos sobre las células de la granulosa y tecaes son síntesis e inhibición de estrógenos, mitosis y apoptosis.

Los efectos de la progesterona son mediados por la interacción con sus receptores específicos (PR-A y PR-B) (Biserka *et al.*, 2004) que son inducidos por estrógenos en muchos tejidos blanco.

Hormonas proteicas.

Inhibina: Hormona proteica contenida en el fluido folicular ovárico de muchas especies, incluida la cerda, que puede suprimir la secreción de FSH a nivel hipofisario. La inhibina es producida por las células de la granulosa. En la cerda, los niveles plasmáticos de inhibina se incrementan durante la fase folicular. Las concentraciones plasmáticas de FSH son inversamente proporcionales a las de inhibina durante esta fase del ciclo. La concentración de inhibina disminuye con el pico de LH y posteriormente muestra dos picos durante la fase luteal. Esto indica que el cuerpo lúteo, además de las células de la granulosa, es una fuente productora de inhibina.

Activina: Hormona proteica de efecto opuesto a la inhibina, que presenta efectos estimuladores sobre la liberación de FSH (Hunter *et al.*, 2009)

Folistatina: Es un péptido de cadena única, diferente a la activina e inhibina, presente en el líquido folicular. Al igual que la inhibina, la folistatina puede inhibir la liberación de FSH pero no la de LH.

Proteína reguladora del folículo (FRP): Esta proteína inhibe la actividad aromatasa de las células de la granulosa, ha sido identificada en el fluido folicular de la cerda y otras especies, pero no inhibe la liberación de FSH. La FRP es secretada por las células de la granulosa de folículos pequeños y medianos. La exposición a cantidades elevadas de FRP conlleva a la supresión de la maduración folicular. Las células de la granulosa de folículos preovulatorios muestran una marcada reducción en la secreción de FRP y la producción de estrógenos. Esto sugiere que a medida que el folículo se luteiniza, existe un cambio en la secreción de FRP asociado con alteraciones en la esteroidogénesis. El elevado nivel de FSH intrafolicular disminuye la acción del FRP en las células de la granulosa, lo que permite la aromatización y la producción de estrógenos. Los folículos que alcanzan la ovulación se supone que presentaron una exposición temprana a la FSH, por lo que tuvieron baja sensibilidad a la FRP (Falceto *et al.*, 1992; Knobil, 1994; Hafez, 2002; Hunter *et al.*, 2004).

2.3 Crecimiento folicular en la cerda.

El crecimiento folicular puede dividirse en dos etapas: una independiente y otra dependiente de gonadotropinas.

Crecimiento folicular independiente de gonadotropinas.

Comprende las etapas de folículo primordial, primario y secundario (preantral y antral). Durante estas fases del desarrollo folicular el ovario no responde a la secreción de gonadotropinas, esto debido a que el desarrollo está dominado por el control intraovárico exclusivamente. En esta etapa los factores de crecimiento ocupan un papel importante en el mecanismo de regulación de la foliculogénesis. Destacan por su importancia en este proceso los factores de crecimiento análogos a la insulina tipo I y II (IGF's), la superfamilia

del factor de crecimiento transformante β (TGF- β) y el factor de crecimiento fibroblástico (FGFs; revisado por Lucy *et al.*, 2001).

Crecimiento Folicular dependiente de Gonadotropinas.

Una vez que los folículos adquieren las células de la teca interna y se forma el antro, su desarrollo futuro y la maduración dependen de las gonadotropinas; de la Hormona Folículo Estimulante (FSH) y de la Hormona Luteinizante (LH). Las células de la granulosa presentan receptores específicos para FSH, los receptores para LH aparecen en el curso de la maduración preovulatoria. Los receptores para LH se presentan en las células de la teca interna.

La habilidad de las gonadotropinas que actúan sobre los folículos depende de la expresión de receptores para gonadotropinas las células ováricas, en los folículos preovulatorios, el receptor para LH es expresado tanto en las células de la granulosa como en las células de la teca. El incremento de la cantidad de RNAm es a la par del desarrollo de los folículos, a partir de los 2mm a los 6mm de diámetro (Bracken *et al.*, 2006).

2.3.1 Crecimiento folicular en cerdas peri puberales.

La reserva ovárica de folículos primordiales se establece antes del nacimiento, el reclutamiento de folículos primordiales en reposo a un pool de crecimiento se da durante la vida fetal. A lo largo de la gestación y después del nacimiento sucede un cambio gradual en las estructuras del folículo dentro del ovario, los folículos primarios aparecen, los folículos secundarios también aparecen desde el nacimiento (Oxender *et al.*, 1979).

El desarrollo folicular y la pubertad están estrechamente relacionados, ambos se asocian con la maduración del eje gonadotropo (hipotálamo-hipófisis-ovario). Alrededor de los 60 días de edad, los folículos terciarios se desarrollan y empiezan tener efecto las gonadotropinas sobre el desarrollo folicular (Schwarz *et al.*, 2008). La retroalimentación negativa por parte del ovario a las gonadotropinas hipofisarias se desarrolla entre los 60 y 100 días de edad. En la etapa de la pre-pubertad no hay cambios muy evidentes en la FSH, las concentraciones de estradiol están asociadas con la primera serie de folículos

preovulatorios, mientras que la LH sigue siendo poca (Christenson *et al.*, 1985). A partir de la pubertad de 10 a 25 folículos se desarrollan al estado preovulatorio.

2.3.2 Crecimiento folicular en cerdas cíclicas.

Se ha sugerido que en el caso de las cerdas no existen oleadas de crecimiento folicular, sino que es un desarrollo continuo de los folículos antrales hasta la ovulación. Los folículos que no son ovulados sufren atresia durante su desarrollo (Cárdenas, 2002). En la cerda durante la fase luteal y comienzos de la fase folicular, existen cerca de 50 folículos que miden de 1-6 mm (Foxcroft *et al.*, 1985). Durante el proestro y el estro, entre 10 y 20 folículos crecen rápidamente alcanzando el tamaño preovulatorio, mientras que el número de folículos de menor tamaño disminuye. Al final de la fase folicular todos los folículos pertenecen a la categoría de grandes (Grant *et al.*, 1989). Hay crecimiento y atresia de los folículos pequeños durante la fase luteal hasta el día 14 del ciclo.

Reclutamiento, selección y dominancia folicular.

Durante la etapa de reclutamiento, un grupo de folículos antrales adquiere la habilidad para responder a las gonadotropinas y comienza su crecimiento rápidamente, de los cuales son seleccionados para la ovulación (Cárdenas, 2002). El reclutamiento ocurre a partir de un pool de folículos, diversos estudios sugieren que este proceso ocurre entre los días 14 y 16 del ciclo estral (Foxcroft *et al.*, 1985) de tal manera que los folículos menores de 4mm comienzan la atresia el día 14 y los mayores de 4mm continúan su crecimiento durante los días 18 y 19 a partir de estos días se produce la selección, para el día 20 y 21 ocurre el crecimiento terminal, justo antes de la ovulación. El reclutamiento folicular puede ser dependiente de las concentraciones de FSH u otros factores reguladores, o del número de folículos que responden a FSH presentes al momento del reclutamiento.

La dominancia se refiere a que algunos folículos se desarrollan en forma más rápida que el resto, se suprime el crecimiento de los subordinados y se impide el reclutamiento de un nuevo grupo de folículos, este proceso está bien identificado en bovinos y primates. En la cerda los folículos que son seleccionados se desarrollan en grupo solo en la fase folicular y

por lo tanto están destinados a la ovulación (codominancia), a diferencia de otras especies donde la selección y el dominio se produce a intervalos regulares y solo es ovulado el folículo dominante que está presente durante la fase folicular (Fortune, 1994).

2.3.3. Crecimiento folicular en cerdas gestantes.

Después de la ovulación, el cuerpo lúteo se desarrolla, lo que ocasiona altas concentraciones de progesterona que cambian la secreción pulsátil de LH a un patrón de baja frecuencia y alta amplitud que resulta en bajas concentraciones circulantes de esta hormona. La progesterona disminuye sensiblemente la secreción de GnRH a nivel hipotalámico. En la hipófisis, la progesterona reduce el número de receptores para GnRH al disminuir el Ácido Ribonucleico mensajero (RNAm) que codifica para su receptor. Altos niveles de progesterona resultan en el decremento de la expresión de genes que codifican para las subunidades α y β de las hormonas LH y FSH (Niswender *et al.*, 2000).

2.3.4 Crecimiento folicular durante la lactación.

El estímulo del amamantamiento juega un papel importante en la regulación de la actividad reproductiva durante la lactación (De Rensis *et al.*, 1993), resultando en una inhibición del estro y la ovulación, sobre todo las primeras semanas de ésta.

El patrón de desarrollo folicular durante la lactación refleja el patrón de secreción de gonadotropinas. Un número de folículos grandes puede estar presente inmediatamente después del parto, pero al final de la primera semana posparto el desarrollo folicular es mínimo. Mientras transcurre la lactación hay un gradual incremento en el número de folículos grandes y medianos. La carencia de actividad ovárica en la lactación temprana parece ser dependiente del amamantamiento ya que este inhibe la secreción de LH (Foxcroft, 1992). La secreción inicial de LH incrementa después del parto, pero conforme transcurre el tiempo de lactación va disminuyendo, sin embargo conforme va disminuyendo el amamantamiento la secreción de esta aumenta (Britt *et al.*, 1985; Quesnel *et al.*, 1995) este incremento se cree que es estimulado por el crecimiento folicular y puede ser explicado porque las cerdas tienen progresivamente folículos

grandes durante la lactación. Los folículos que se desarrollan durante la última etapa de la lactación son capaces de llegar hasta un crecimiento preovulatorio y hasta ovular si son estimulados con GnRH o eCG (Britt *et al.*, 1985).

La secreción de LH también puede ser modificada por los niveles de alimentación y por influencia del medio ambiente, lo que puede conducir a reducción en el crecimiento folicular, asociado con una disminución en la secreción de LH en cerdas con bajo nivel de alimentación o una exposición a altas temperaturas. (Armstrong *et al.*, 1984, Quensel *et al.*, 1998) encontraron que una restricción en el alimento durante la lactación ejerce una influencia negativa en el patrón pulsátil de la LH, en el mismo trabajo no se vieron afectadas las concentraciones de FSH, pero sí la actividad ovárica. En contraste, la secreción de FSH no es inhibida durante la lactación (Britt *et al.*, 1985), la FSH parece ser regulada por otros factores ováricos posiblemente estradiol, inhibina o ambas. Cambios en las concentraciones plasmáticas de FSH y estradiol coinciden con el desarrollo de folículos antes y después de la lactación, grandes concentraciones de estradiol son asociados con folículos dominantes durante la oleada folicular antes del destete. La regresión de la oleada folicular conduce a un decremento de estradiol en plasma y a un incremento en las concentraciones de FSH en plasma. El pico de la actividad folicular es precedido por un incremento en FSH presumiblemente por la estimulación de una nueva oleada folicular en desarrollo (Lucy *et al.*, 2001).

2.3.5 Crecimiento Folicular al destete.

Una vez que se efectúa el destete, existe un aumento progresivo en las concentraciones de GnRH a nivel hipotalámico el cual coincide con un incremento de LH y por ende con un incremento en el crecimiento folicular. Las cerdas presentan folículos aproximadamente de 2 a 5 mm de diámetro cuando son destetadas. El destete ocasiona un rápido desarrollo de los folículos preovulatorios (Cox and Britt, 1985). La máxima esteroidogénesis de los folículos se observa cuando las cerdas se acercan al estro y los folículos alcanzan 6 a 7mm de tamaño. La variación en el intervalo destete-estro es probablemente causado por el desarrollo folicular antes del destete (Bracken *et al.*, 2006).

Un inmediato incremento en la secreción de LH es invariablemente observada en respuesta al destete y es el primer estímulo para el desarrollo folicular. Numerosos trabajos tienen reportado una relación entre el patrón de LH durante la lactación y la fertilidad después del destete y también es reportada una relación entre las concentraciones de FSH después del destete y la tasa de ovulación (Britt *et al.*, 1982; Foxcroft, 1985; Killen *et al.*, 1992). Existen evidencias que los cambios en la secreción de LH y FSH durante la lactación tardía e inmediatamente después del destete afectan la fertilidad de las cerdas. Las concentraciones basales y el número de picos de LH incrementan después del destete (Britt *et al.*, 1982). El incremento en el patrón pulsátil se cree que es conducido por el crecimiento folicular hacia la ovulación. Las concentraciones de FSH inicialmente se incrementan después del destete, pero decaen con el desarrollo de folículos preovulatorios (Foxcroft, 1985).

También se observa un decremento en FSH coincidentemente con un incremento en el crecimiento folicular y un incremento en estradiol (Lucy, 2001).

Lucy *et al.*, (1999) realizaron un estudio donde examinaron los ovarios de cerdas siete días antes del destete hasta la ovulación después de ser destetadas. Fueron observados cuatro patrones de crecimiento folicular (figura 1), el primero de dos patrones de desarrollo, las cerdas ovularon y en el segundo patrón observaron la formación de quistes foliculares ambos antes del destete. El tercer patrón se caracterizó por encontrar folículos menores a 2mm de diámetro (inactividad ovárica). En el cuarto patrón se observaron oleadas de crecimiento folicular antes del destete. Las oleadas consistieron en un grupo de 20 a 30 folículos que se desarrollaron en oleadas de 2mm a 4 a 6mm.

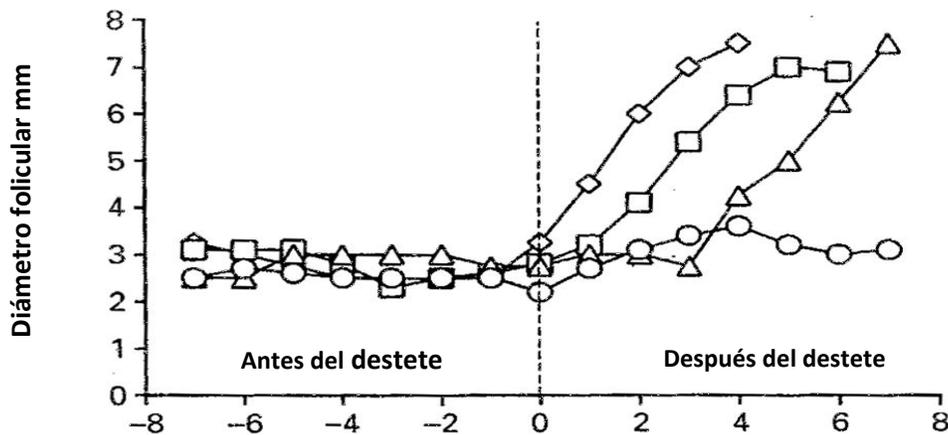


Figura 1. Patrones de crecimiento folicular en cerdas al momento del destete, las cerdas fueron agrupadas dependiendo del número de días que tardaron en ovular después del destete. 5 días ◇, 7 días □, 9 días △, anestro ○. Las cerdas que ovularon al día 5 iniciaron una oleada de crecimiento folicular poco antes del destete, las cerdas que ovularon después iniciaron el crecimiento folicular después del destete. Por último las cerdas que no ovularon (anestro) tuvieron fallas en el crecimiento folicular (Lucy *et al.*, 2001).

2.4 Ovulación y desarrollo temprano de los cuerpos lúteos

2.4.1. Eventos fisiológicos asociados a la ovulación

Algunos de los folículos seleccionados, después de ser expuestos a un ambiente hormonal específico, ovulan como respuesta a un pico preovulatorio de gonadotropinas. Este proceso se controla a través de señales que interactúan, tanto endocrinas como locales (factores de crecimiento) (David G. *et al.*, 1997)

Entre los días 14 y 16, los folículos grandes son más visibles en comparación con los pequeños, sin embargo entre estos folículos se observa una diferencia en el tamaño, esto sugiere que en el momento de la ovulación los folículos no estarán en el mismo estado de maduración (Grant, 1989). El número de folículos reclutados y los que se sufrieron atresia son determinantes para el número de folículos que se van a ovular (Cárdenas *et al.*, 2002). El pico preovulatorio de LH, induce la ovulación. Hay un nivel basal de 1ng/ml de LH durante la fase folicular, un aumento en las concentraciones de ésta se da al momento del pico preovulatorio, entre 7 y 15 horas después de que el estradiol alcance su máxima concentración. En la mayoría de las ocasiones el pico de LH se produce horas antes del

inicio del estro, aunque hay una gran variabilidad individual, ya que algunas cerdas muestran el pico de LH unas horas después del inicio del estro (Falceto *et al.*, 1992; Hunter *et al.*, 2004; Knobil, 2006). Los efectos del pico de LH sobre el folículo son, reanudación de la meiosis del ovocito (arrestado en la metafase II), luteinización de las células de la granulosa y de la teca, aumento en las concentraciones de progesterona en el fluido folicular. Además de un aumento en las concentraciones de prostaglandinas E y F las que a su vez actúan para que se lleve a cabo la ruptura de los folículos. Un incremento en la concentración de progesterona aumenta la actividad de las enzimas proteolíticas colagenasa y plásmína, además la progesterona aumenta la flexibilidad de la pared folicular. Este cambio de las características de la pared folicular explica el aumento del fluido folicular, que no está relacionado con el incremento de la presión intrafolicular en la cerda (Falceto *et al.*, 1992; Murphy, 2000; Eppig *et al.*, 2004; Knobil, 2006).

2.4.2. Formación del cuerpo lúteo.

La oleada preovulatoria de LH induce la ovulación y la diferenciación de las células de la granulosa y de la teca las cuales sufren procesos de hipertrofia y de hiperplasia dando como resultado la formación del cuerpo lúteo. Inicialmente el cuerpo lúteo se considera cuerpo hemorrágico debido a su cavidad central llena de sangre, pero en el transcurso de seis a ocho días el cuerpo lúteo es un cuerpo sólido de células luteínicas con diámetro global de 8 a 11 mm. La fase lútea se caracteriza por el rápido desarrollo del cuerpo lúteo hasta su peso máximo (350 a 450 mg) hacia el día 6 a 8 de ésta, el mantenimiento de la integridad celular y el funcionamiento secretor hacia el día 16 posterior la rápida regresión hacia un cuerpo blanco no secretor (Murphy,2000; Hafez,2002).

Durante la luteinización (día 1), las células de la granulosa en la periferia del folículo roto son cuboides a cilíndricas y están separadas por espacios extracelulares irregulares que contienen líquido folicular precipitado. Hacia el día cuatro, la luteinización es prácticamente completa (Falceto *et al.*, 1992).

Cuerpo Lúteo

El cuerpo lúteo juega un papel esencial en la regulación en ciclo estral y el mantenimiento de la gestación de los mamíferos (Stocco *et al.*, 1998). La función primaria del cuerpo lúteo es la secreción de progesterona. El cuerpo lúteo se desarrolla a partir de los residuos foliculares, de células de la teca y de la granulosa después de la ovulación. La hormona Luteinizante (LH) es importante para su normal desarrollo y función, aunque la hormona de crecimiento, la prolactina, y el estradiol también juegan un papel relevante en algunas especies. El cuerpo lúteo se forma a partir de dos tipos de células esteroideogénicas de origen folicular. Las células pequeñas parecen ser de origen tecal y responden a un incremento de LH incrementando la secreción de progesterona (Telleria, 2006). La LH estimula directamente la secreción de progesterona a partir de las células lúteas pequeñas a través de la activación de la vía proteína quinasa A (PKA). Las células lúteas grandes son originadas a partir de las células de la granulosa y contienen receptores para $PGF2\alpha$ que parece ser el mediador de acciones luteolíticas. Si no ocurre gestación se lleva a cabo la regresión del cuerpo para permitir el crecimiento folicular, la ovulación, y que el ciclo se repita. La regresión del cuerpo lúteo es iniciada por la $PGF2\alpha$ de origen uterino en la mayoría de las especies.

2.5. Desarrollo embrionario temprano y reconocimiento de la gestación en la cerda.

2.5.1. Reconocimiento de la gestación.

La teoría endocrina-exocrina del reconocimiento de la gestación en cerdos fue descrita por primera vez por Bazer and Thatcher (Ziecik, 2002). Las mayores suposiciones son que el endometrio segrega prostaglandinas (PGF) y que el embrión secreta estrógenos los cuales son antiluteolíticos. En el ciclo de la cerda, la PGF es secretada en dirección endocrina hacia la vasculatura uterina para ser transportada al cuerpo lúteo para ejercer su efecto luteolítico. Sin embargo, en cerdas gestantes, la dirección de la secreción de PGF es exocrina, dentro del lumen uterino donde es secuestrada para que no alcance el cuerpo lúteo. La PG es liberada primero dentro de la vena uterina (endocrina) en cerdas

jóvenes ciclando, pero dentro del lumen uterino (exocrina) en cerdas gestantes o pseudogestantes. La transición de la secreción endocrina a exocrina ocurre dentro de los días 10 a 12 de gestación, la cual es temporalmente asociada con la secreción inicial de estrógenos por la elongación del embrión.

Los estrógenos secretados por el embrión, inducen una liberación transitoria de calcio en el lumen uterino. La reabsorción de este calcio por el endometrio y/o los tejidos del embrión ocurre cerca de 12 horas después de que las máximas concentraciones de calcio son alcanzadas en el útero. La señal de dirección de la secreción de la PGF endometrial de endocrina a exocrina se liga a la reabsorción de calcio por el endometrio. Se sugiere que la inducción de calcio a través del epitelio endometrial se asocia con la redirección de la secreción de la PGF (Geisert *et al.*, 1990).

La prostaglandina del útero es luteolítica y los estrógenos producidos por el embrión entre los días 11 y 12 de gestación proporcionan la señal inicial del reconocimiento de la gestación. Un segundo periodo de producción de estrógenos ocurre entre el día 15 y 25 a 30 días de gestación (Geisert *et al.*, 1990).

2.5.2. Embrión: cambios morfológicos y secreción de sustancias.

El establecimiento y mantenimiento de la gestación resulta de señales enviadas por el embrión (asociado con membranas extraembrionarias) además de la progesterona producida por el cuerpo lúteo. En muchos mamíferos las hormonas producidas por el trofoblasto mantienen la producción de progesterona por acción directa o indirecta para mantener el cuerpo lúteo. El crecimiento y desarrollo del embrión en los mamíferos invariablemente requieren progesterona además de hormonas placentarias para regular acciones en el útero; la progesterona regula la diferenciación endometrial y su función, el reconocimiento de la gestación, la receptividad para la implantación del blastocisto y las interacciones del embrión con el útero (Bazer *et al.*, 1986; Carson *et al.*, 2000). Las hormonas del embrión actúan sobre el útero de manera paracrina para el establecimiento y mantenimiento de la gestación. El mantenimiento de la gestación requiere de interacciones entre el embrión y el endometrio. Evidencias disponibles

soportan la idea de que las hormonas a partir de la placenta actúan directamente sobre el endometrio para regular la diferenciación celular y funcionamiento. En los animales domésticos, el endometrio sufre hiperplasia e hipertrofia que parece ser dependiente de las acciones temporales de las hormonas de la placenta. La morfogénesis de las glándulas endometriales durante la gestación permite el incremento de la secreción de proteínas que son transportadas para el feto (Bazer *et al.*, 1986).

2.5.3. Útero: cambios morfológicos y secreción de sustancias.

Durante la permanencia de los cigotos-embriones en el oviducto, éstos se ven influenciados por secreciones propias del oviducto que modifican la composición de la zona pelúcida (ZP) (Hedrick *et al.*, 1987) y además afectan a la tasa de división (Fukui *et al.*, 1988) y a la viabilidad embrionaria (Gandolfi y Moor, 1989). El oviducto participa activamente en el mantenimiento y preparación de los ovocitos para la fecundación y la división celular posterior. El fluido oviductal (FO), está constituido principalmente por una mezcla de sustancias derivadas del plasma sanguíneo a través de la trasudación selectiva. El fluido está compuesto por proteínas, enzimas, aminoácidos, compuestos energéticos, hormonas y electrolitos y varía según las fases del ciclo ovárico (Jaeger *et al.*, 2001).

2.5.4. Comunicación materno-embionaria.

Puesto que el proceso de reconocimiento de la preñez por el lado materno y la posterior implantación uterina y formación de las capas placentarias es un proceso complejo que aún no ha sido explicado del todo, es necesario mencionar algunos de los mecanismos fisiológicos implicados en este proceso. Por ejemplo la expresión de los receptores para la progesterona y estrógenos por parte del embrión para el mantenimiento y reconocimiento de la preñez.

Factores de crecimiento y citocinas.

Numerosos factores de crecimiento y citocinas han sido localizados en el útero porcino y en los embriones, lo que implica que al interactuar entre sí, ejercen efectos de tipo autocrino y paracrino sobre el reconocimiento de la preñez y la gestación temprana.

Interferón gamma (IFN- γ): Entre el día 10-25 de la gestación la morfología del embrión cambia, estos cambios son regulados a través de la comunicación de madre- embrión. El embrión secreta interferón γ , que a su vez pueden influir en la producción materna de interleucina 6 (Gupta *et al.*, 1996).

Factores de crecimiento ligadores de heparina: ligan e inmovilizan a la heparina, se les relaciona con la implantación embrionaria.

Factor de crecimiento de fibroblastos (FGFs): participa en la proliferación celular, migración, angiogénesis, desarrollo embrionario y diferenciación celular; ha sido identificado en tejidos uterinos y fetales del cerdo. Se han localizado receptores tanto en el embrión como en tejidos uterinos, indicando el efecto potencial en el crecimiento y desarrollo del útero y la implantación de los productos.

Proteínas ligadoras de IGF's: modulan la actividad de IGF's en la preñez temprana, día 12 en cerdos.

Factores de crecimiento tipo β (TGF- β s): durante el periodo de adhesión el TGF- β en sus tres isoformas y sus receptores, son sintetizados por el propio embrión y son independientes de los receptores de la madre. Estos factores de crecimiento participan en la proliferación y diferenciación celular, modificación de las integrinas y proteínas de la matriz intracelular, angiogénesis e inmunosupresión, todas estas acciones ocurren durante el periodo de gestación temprana (Gupta *et al.*, 1998).

Integrinas y proteínas de la matriz extracelular: sus receptores están localizados en los tejidos maternos y fetales, tienen un papel fundamental en la implantación. Las integrinas están relacionadas con la adhesión, migración, invasión e inducción del citoesqueleto a través de numerosas señales hormonales que resultan en la expresión de genes específicos para el reconocimiento de la preñez (Ashworth *et al.*, 2001).

2.6 Implantación y placentación en la cerda

2.6.1. Eventos fisiológicos asociados a la implantación

En el transcurso de la preñez, la madre hace ajustes metabólicos y de crecimiento para proporcionar una cantidad adecuada de nutrimentos al feto en desarrollo. Durante la gestación, se alteran la composición corporal, la ingesta de alimento, el consumo de energía y el metabolismo de la madre (Martin *et al.*, 2003).

Datos recientes sugieren que factores de crecimiento similares a la insulina (IGF) y sus proteínas de unión participan de manera importante en la adaptación materna, lo que garantiza un suministro adecuado de sustratos al feto en desarrollo (Martin *et al.*, 2003, De Mayo *et al.*, 2004).

Una característica peculiar del desarrollo temprano de los mamíferos es el aporte de nutrimentos del organismo materno hacia los productos a través de la placenta. La placenta es una aposición o fusión de las membranas fetales al endometrio para permitir el intercambio fisiológico entre el feto y la madre. Se origina como resultado de diversos grados de interacciones materno-fetales y se comunica con el embrión por medio de un cordón de vasos sanguíneos. Sus funciones y tamaño cambian continuamente durante la preñez y finalmente es expulsada durante el parto. Para el feto, la placenta combina en un sólo órgano muchas actividades funcionales que son independientes en el adulto (Peré, 2003; Ashworth *et al.*, 2001).

2.6.2. Tipo, estructura y función de la placenta.

La placenta porcina está clasificada como epiteliocorial y difusa. Se basa en el número de tejidos maternos y fetales que están realmente en contacto. La estructura básica comprende, por el lado de la madre vasos sanguíneos, tejido conectivo y epitelio, por el lado del feto epitelio coriónico, tejido conectivo y vasos sanguíneos (Hafez, 2000; Wilson y Ford, 2001; Merkis *et al.*, 2005).

La placenta realiza muchas funciones y sustituye el tubo digestivo, los pulmones, riñones, el hígado y las glándulas endocrinas del feto. Además, separa los organismos materno y fetal, asegurando por tanto el desarrollo independiente del feto. La sangre del feto y de la

madre nunca entran en contacto directo, aunque las dos circulaciones están lo suficientemente cerca en la unión de corion y endometrio para que pasen oxígeno y nutrientes de la sangre materna a la fetal, y los productos de deshecho en la dirección opuesta (Merkis *et al.*, 2005).

La eficiencia con que la placenta transporta nutrientes y oxígeno hacía el feto está determinada por la superficie de contacto entre la pared uterina (vellosidades coriónicas) y el flujo sanguíneo de ambas partes (Hafez, 2000, Wilson, 2001, Merkis *et al.*, 2005).

2.7 Sincronización del ciclo estral de la cerda por métodos hormonales.

2.7.1. Regímenes basados en acortar la vida del cuerpo lúteo (CL).

Prostaglandinas

Mediante la utilización de prostaglandina F2 alfa natural o sus análogos sintéticos la función del cuerpo lúteo puede ser inhibida y la secreción de progesterona eliminada durante la fase luteal del ciclo estral. Este mecanismo posibilita sincronizar la iniciación del estro en un determinado grupo de hembras de distintas especies (Polge, 1980). Los experimentos llevados a cabo en cerdas muestran que la luteólisis sólo es efectiva cuando se aplican en el día 12 o 13 del ciclo estral (Guthrie *et al.*, 1976). La utilización de prostaglandinas en la sincronización del estro en cerdas no es clara, sin embargo su utilización va encaminada en algunos casos a lograr un incremento en la tasa ovulatoria logrando con ello el incremento en el tamaño de la camada. En algunos trabajos realizados con prostaglandinas como el de (Peña *et al.*, 1998, citado por Trujillo), en donde aplicaron 5 mg de PGF2 alfa en los labios vulvares, se observó que las cerdas a las que se les suministró la prostaglandina incrementaron hasta en un 40% la fertilidad y un lechón nacido más en promedio.

Gonadotropinas

En la especie porcina, la generación de una nueva oleada folicular, puede ser inducida en cualquier momento de ciclo estral y los cuerpos lúteos generados se mantienen normalmente por 12 a 14 días. De este modo, la administración de gonadotropinas

exógenas resulta el establecimiento de un nuevo ciclo estral (Polge, 1980). La estimulación de las gónadas en ambos sexos se consigue mediante la administración de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), de las gonadotropinas no hipofisarias (hCG y la eCG también conocida como PMSG).

La GnRH aumenta la secreción de LH y FSH; en algunas ocasiones se puede conseguir la ovulación o luteinización de un quiste ovárico. Su efecto sobre la secreción de gonadotropinas es breve, manteniéndose solo unas horas. Existen diversas opciones de combinaciones con gonadotropinas (Polge, 1980):

Una inyección única de eCG (725 UI) es suficiente para inducir la pubertad en cerdas.

Una dosis única de eCG (1200 UI) administrada en cerdas después del destete es efectiva para conseguir la presentación del estro.

Una combinación de 400 UI de eCG más 200 UI de hCG después del destete es suficiente es efectiva para la presentación del estro.

Una dosis de 500 a 1500 UI de hCG el día 12 del ciclo estral, prolonga la duración del cuerpo lúteo.

En el caso de inducción a la superovulación el uso de 400 UI de eCG y 200 UI de hCG (Solorio *et al.*, 2002).

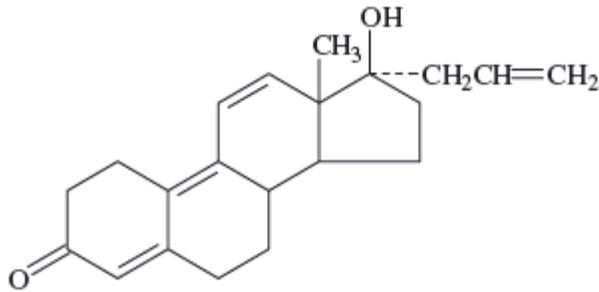
2.7.2. Regímenes basados en simular la función endocrina del CL.

2.8 El progestágeno Altrenogest (Regumate).

Regumate (Altrenogest) es un esteroide sintético con actividad progestágena, que detiene el inicio de la fase folicular, por tal es utilizado en la sincronización del ciclo estral de las cerdas (Soede *et al.*, 2007) y yeguas. Además tiene actividad estrogénica débil y androgénica. Para sincronizar el ciclo estral, Regumate, es administrado en una dosis de 20mg día durante un periodo de 18 días es utilizado tanto de cerdas de reemplazo como multíparas.

2.8.1. Estructura química

Altrenogest (17-alil-17b-hidroxiestra-4, 9,11-trien3-ona) puede ser considerado como un derivado de la C19 nortestosterona, éstas difieren en dos dobles enlaces en las posiciones 9 y 11 y un grupo alil en C17 (Marchnik *et al.*, 2007).



2.8.2. Metabolismo

Regumate se absorbe rápidamente tras la administración oral, alcanzando concentraciones plasmáticas máximas entre 1 y 4 horas después del tratamiento. El hígado es el principal órgano involucrado en el metabolismo del altrenogest y la excreción biliar es su principal vía de eliminación. Después del tratamiento las concentraciones circulantes disminuyen. La vida media de la eliminación se estimó en alrededor de 14 horas.

2.8.3 Excreción

Este progestágeno se metaboliza ampliamente en el hígado y se elimina por excreción biliar. También se excreta a través de la orina, en ratas de laboratorio por ejemplo se elimina un 20% en la orina después de 24 horas de ingerido.

2.9 Efectos de Regumate sobre el ciclo estral de la cerda.

Los componentes progestacionales se han utilizados durante mucho tiempo en especies domesticas como sincronizadores del ciclo estral, actúan simulando la función del cuerpo lúteo, han sido ampliamente utilizadas en la industria porcina con el objetivo de sincronizar el ciclo estral y lograr la introducción a la vida productiva de la mayor cantidad

de hembras posible. Los progestágenos actúan inhibiendo el desarrollo final de los folículos, su utilización se basa en la capacidad de inhibir el pico preovulatorio de LH, bloqueando la ovulación hasta que finaliza la administración de estos. Cuando la cerda se encuentra en la fase folicular se bloquea la ovulación, en cambio si se encuentra en metaestro se altera la vida del cuerpo lúteo, si se encuentra en diestro el cuerpo lúteo se lisa. (Arthur's, 2001; Dyck, 2009). Las cerdas pueden tardar de 5 a 6 días en presentar signos de estro después de terminado el tratamiento con progestágenos.

El progestágeno más utilizado es Regumate, al respecto se han reportado buenos resultados en cuanto a la sincronización del ciclo estral y un aumento en la tasa ovulatoria al término de su administración, en cerdas destetadas se han encontrado resultados similares (Martinat-Botté *et al.*, 1990; Koutsethodus *et al.*, 1998).

2.10. Otros efectos potenciales de Regumate sobre la eficiencia reproductiva de la cerda.

2.10.1. Desarrollo folicular y Regumate.

En un trabajo realizado recientemente por Leeuwen *et al.*, 2010 en cerdas primíparas donde se utilizaron dosis de 15 y 20 mg de Regumate y dos diferentes tiempos de administración (7 y 14 días) iniciando un día antes del destete, comparó el desarrollo folicular con la administración de Regumate y la fase folicular en cerdas después del destete, relacionó además la tasa de ovulación y el desarrollo embrionario. La conclusión del trabajo, fue que el tamaño de los folículos incrementó durante los primeros 6 días posdestete, independientemente de la dosis del tratamiento, además de que altrenogest no mejora la tasa de ovulación o el desarrollo embrionario.

2.10.2. Supervivencia embrionaria y Regumate.

Se ha reportado en trabajos que además de su efecto en la sincronización del ciclo estral Regumate tiene efecto sobre la tasa de ovulación (Webel y Day, 1982; Martinat-Botté *et al.*, 1985; Martinat-Botté *et al.*, 1989). En estudios preliminares el tratamiento con el progestágeno, no sólo dio como resultado una buena fertilidad, además incremento el tamaño de la camada.

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis.

La utilización del progestágeno (Regumate) previa al inicio de la gestación sincroniza el crecimiento folicular y provoca que la formación de los cuerpos lúteos al inicio de la fase lútea sea más homogénea, induciendo un ambiente uterino más propicio para el desarrollo embrionario en cerdas. Lo anterior podría tener un efecto positivo en el tamaño de la camada al parto subsecuente.

Objetivos.

- 1.- Determinar si la aplicación del progestágeno (Regumate), además de sincronizar el estro, modifica la tasa ovulatoria, la función lútea y la supervivencia embrionaria en cerdas de reemplazo.
- 2.- Evaluar si el tratamiento con el progestágeno (Regumate) al final de la lactación provoca un crecimiento folicular más homogéneo al momento del destete, modifica la función lútea y aumenta el tamaño de camada al parto subsecuente en cerdas multíparas.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Ubicación

El trabajo se realizó en las instalaciones del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología Animal del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (CENIDFA-INIFAP), ubicadas en Ajuchitlán, Colón, Querétaro, a una altitud de 1990 msnm entre las coordenadas geográficas 20° 47' de latitud norte y 100° 03' de longitud oeste, precipitación pluvial anual de 400-800mm, temperatura media anual entre 10-20°C y con clima Semiseco templado (INEGI, 2005). El trabajo se condujo según la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio (DOF, 2002).

Primer experimento.

Se realizó una selección previa de 136 cerdas (Duroc x Landrace) con 95 días de edad y con un peso promedio de 70 kg, de este grupo se realizó una segunda selección, tomando en cuenta; edad a la pubertad (pubertad=primer estro detectado) además del peso, de esta manera se obtuvieron las 34 cerdas que en promedio tenían 117.9 ± 1.4 días de edad, con un peso promedio de 87.6 ± 0.7 Kg.

A partir de la primera selección y hasta que las cerdas (n=136) fueron detectadas en estro por primera vez, se alojaron en corrales colectivos. Las hembras recibieron un alimento de crecimiento estándar en cantidad suficiente (2.2 Kg. al día por cerda), repartido en dos raciones al día. Todas las hembras fueron expuestas a la presencia de un verraco celador 2 veces al día para determinar el inicio de la pubertad como ya se indicó se determinó ésta al primer estro detectado.

Tratamientos

Una vez seleccionadas las 34 cerdas, fueron alojadas en corraletas individuales y asignadas aleatoriamente a uno de dos tratamientos:

- 1.-Grupo control (17 cerdas); No se les administró el progestágeno.
- 2.- Grupo experimental (17 cerdas); se les administró 20mg del progestágeno Regumate (Altrenogest) por día durante 18 días.

Manejo general

La administración de Regumate se inició a partir de un día después de detectado el primer estro, durante 18 días consecutivos, el tratamiento se les suministró en 500gr de alimento en la primera comida del día. Las cerdas fueron monitoreadas dos veces al día con un verraco celador a partir del día siguiente de finalizado el tratamiento para detectar estro. Fueron inseminadas artificialmente a las 12 y 24 horas después de detectado el estro. A partir del inicio de la administración de Regumate y hasta el momento en que las hembras manifestaron estro, fueron alimentadas con 3 Kg de alimento de crecimiento estándar por cerda. Después de la inseminación, las cerdas recibieron un alimento de gestación estándar en cantidad suficiente (3.0 Kg al día) para cubrir 100 % sus requerimientos nutricionales de acuerdo a las recomendaciones del NRC (1998). El diagnóstico de gestación se determinó por retorno al estro, monitoreando a las cerdas a partir del día 18 posterior a la inseminación.

Mediciones

Pesaje

Se registró el peso de las cerdas al inicio del experimento, a la pubertad y un día antes de ser enviadas a rastro.

Eventos Reproductivos

Se determinó la tasa de gestación (proporción de cerdas gestantes con relación al total de servidas).

Muestreo sanguíneo

El día del estro (día 0) y al día siguiente (día 1), se tomaron 2 muestras de sangre por día, con un intervalo de 12 horas, a partir del segundo día se tomó una sola muestra cada 24 horas, hasta los diez días posteriores al estro en 26 cerdas (13 cerdas control y 13 cerdas Regumate). Además se tomó una muestra al momento del sacrificio.

Las muestras fueron obtenidas por punción en la vena yugular, colectadas en tubos con heparina, colocadas en hielo inmediatamente fueron centrifugadas durante 10 minutos a

2500 g para separar el plasma. El plasma fue colocado en 3 viales de 1ml cada uno y fueron mantenidas a menos 20°C hasta el momento en que fueron sometidas a la técnica de Radioinmunoanálisis para la determinación de concentraciones de Estradiol y Progesterona.

Recuperación de útero y recolección de ovarios

Las cerdas se sacrificaron alrededor del día 30 después de la inseminación. Inmediatamente después del sacrificio se recuperó el tracto reproductivo (ovarios y útero). Se determinó el peso de los ovarios, con y sin cuerpos lúteos. Se hizo la disección de los cuerpos lúteos y se determinó el número y el peso de éstos, se registró la presencia de cuerpos hemorrágicos y/o quistes foliculares.

De las cerdas gestantes fueron recuperados los úteros, se les retiró todo el tejido no perteneciente a éste, se eliminó la sangre adherida con solución salina fisiológica, después de esto cada oviducto fue lavado con 15ml de una solución Dulbecco's PBS, después de este procedimiento el oviducto fue separado del útero, cada cuerno uterino fue abierto mediante disección roma y se expuso suavemente cada uno para recuperar los embriones dentro de su vesícula. Los embriones fueron clasificados subjetivamente (viables o no) tomando en cuenta la apariencia y desarrollo. El número de embriones vivos (número de embriones vivos/número de cuerpos lúteos), muertos y totales

Segundo experimento

Se utilizaron 84 cerdas multíparas (Duroc x Landrace) de 1 a 5 partos, que se encontraban al final de la gestación en el día 110.

Tratamientos

La lactación tuvo una duración de 27 ± 3 días en promedio, a l día 21 de ésta se asignaron de forma aleatoria a uno de dos tratamientos:

- 1.- Grupo control (41 cerdas); No se le administró el progestágeno
- 2.- Grupo experimental (43 cerdas); Se les administró 20mg de Regumate durante 7 días.

Manejo General

Como ya se mencionó antes la lactación tuvo una duración promedio de 27 ± 3 días. Durante ésta las cerdas fueron alimentadas individualmente con un alimento de lactación estándar. La cantidad de alimento fue aumentando progresivamente conforme transcurrió la lactación, el día del parto recibieron 2kg, se aumentó medio kg por día. La distribución de alimento se realizó dos veces al día, la cantidad ofrecida y los rechazos fueron pesados y registrados diariamente. La suplementación oral con Regumate (en 500 g de la primera comida del día) comenzó al día 21 de la lactación y finalizó al momento del destete. A partir del día 2 posdestete, las cerdas fueron monitoreadas dos veces al día con un verraco celador para detectar el retorno a estro. Las cerdas fueron inseminadas artificialmente 12 y 24 horas después de ser detectadas en estro Una vez que las cerdas fueron inseminadas, recibieron alimento de gestación estándar en cantidad suficiente para cubrir 100% de sus requerimientos nutricionales de acuerdo a las recomendaciones del NCR (1998).

Mediciones

Pesaje

Las cerdas fueron pesadas al momento de entrar a maternidad, además de medir la profundidad de músculo gran dorsal y de grasa subcutánea a la altura de la última costilla

utilizando un equipo de ultrasonido Honda HS-200, con un transductor lineal multifrecuencias, en las primeras horas después del parto las camadas fueron homogenizadas de 9-11 lechones por camada, se registró el peso de cada camada, se realizó el mismo procedimiento de pesaje, medición de grasa y músculo al salir de la maternidad (día 28 de lactación) además se registró el peso de las camadas.

Eventos reproductivos

Se registró la duración del intervalo destete-estro y el número de cerdas que reinician la actividad reproductiva dentro de los 9 días posteriores al destete. La tasa de gestación también fue determinada.

Al parto subsecuente a la aplicación de Regumate, el número de lechones nacidos vivos, lechones nacidos muertos y de momias fueron registrados.

Muestreo sanguíneo.

El muestreo sanguíneo comenzó un día antes del destete (día 27 de lactación) se registró como el día -1 y se tomaron muestras hasta el día 9 posdestete (34 cerdas), 24 cerdas se muestrearon el día -1 y solo los 3 días en que presentaron celo.

Las muestras fueron obtenidas por punción en la vena yugular, colectadas en tubos con heparina, colocadas en hielo inmediatamente fueron centrifugadas durante 10 minutos a 2500 g para separar el plasma. El plasma fue colocado en 3 viales de 1ml cada uno y fueron mantenidas a menos 20°C hasta el momento en que fueron sometidas a la técnica de Radioinmunoanálisis para la determinación de concentraciones de Estradiol y Progesterona.

Recolección de ovarios

Se sacrificaron 26 cerdas, 14 del grupo control y 12 del grupo experimental con la finalidad de recolectar ambos ovarios para el conteo de folículos y cuerpos lúteos. De éstas fueron enviadas a rastro 7 cerdas del grupo control y 7 del grupo experimental al día 5 posdestete para la disección y conteo de folículos. Y al día 12 en promedio después del destete se

enviaron a rastro otras 7 cerdas del grupo control y 5 del grupo experimental para el conteo y medición de cuerpos lúteos de ambos ovarios.

Inmediatamente después de la recolección de los ovarios, estos fueron lavados con solución salina fisiológica, se colocaron en un recipiente con ésta solución y fueron mantenidos en hielo para su transporte, esto con el fin de evitar su descomposición o pérdida de la integridad. En el laboratorio se pesaron, se diseccionaron los ovarios obteniéndose los folículos y/o cuerpos lúteos los cuales se contaron, se pesaron y se midieron

Determinación hormonal

El radioinmunoanálisis se llevó a cabo en el CENID- Microbiología del INIFAP Palo Alto. Se realizó esta prueba para determinar la concentración de Estrógenos y Progesterona en las muestras de plasma obtenidas.

Principio del análisis: el ensayo Progesterona y Estrógenos Coat-A- Count es un radioinmunoensayo de fase sólida donde la progesterona y estrógenos marcados con I¹²⁵ compite por un tiempo fijo por las hormonas de la muestra, por sitios de unión a un anticuerpo. Debido a que el anticuerpo está inmovilizado en la pared del tubo de polipropileno, la simple decantación del sobrenadante es suficiente para determinar con la competencia y aislar la fracción unida al anticuerpo de las hormonas marcadas con I¹²⁵. La lectura del se realizó con un contador gamma, proporcionando un número que se convierte por medio de una curva de calibración, en una medida de hormonas presentes en las muestras.

El procedimiento inició marcando cuatro tubos de ensayo de polipropileno. Tubos T (cuentas totales) y NSB (unión no específica), se marcaron con A (unión máxima) 14 tubos recubiertos con anticuerpos anti-progesterona y anti- estrógenos y de B a G por duplicado. Además se marcaron tubos recubiertos con anticuerpo, también por duplicado, para controles y muestras. Se pipetearon 100 microlitros del calibrador cero A en cada uno de los calibradores de B a G en los tubos marcados, se pipetearon 100 microlitros de cada control y muestra en tubos preparados, se añadió además 1ml de

hormonas marcadas se agitaron con un vórtex, se incubaron durante 3 horas a temperatura ambiente, se decantaron, se eliminó toda la humedad visible, se dejaron escurrir 3-5 minutos, por último se golpearon a contra papel con el fin de eliminar las gotas residuales, se colocaron en los portatubos acomodados de tal manera que no perdieran la continuidad de la identificación. Se leyeron en un contador gamma (Coat-A Count® Progesterone, Coat-A Count® Estradiol).

Análisis estadístico

Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza para un diseño de bloques completos al azar (bloque= grupo de parición y grupo de gestación) usando el procedimiento PROC MIXED del paquete estadístico SAS (Littell et al., 1998, SAS Inst., Inc., Cary, NC). El peso de las cerdas y de las camadas, el espesor de músculo, de grasa dorsal y las concentraciones de estradiol y progesterona fueron analizados como mediciones repetidas (PROC MIXED). El número y peso de folículos y cuerpos lúteos fueron analizados utilizando PROC GLM. El porcentaje de cerdas en estro y gestación fueron analizadas mediante la Prueba Exacta de Fisher (Fisher's Exact Test, SAS).

5. RESULTADOS

Primer experimento

Consumo de alimento y peso vivo.

Las variables de producción, consumo de alimento y peso vivo para efecto de este trabajo se utilizaron como variables de control por lo que el tratamiento no tuvo efectos sobre éstas, lo que se esperaba (Cuadro 1). En el peso de las cerdas no se encontró diferencia significativa, peso a la pubertad (P=0.47), peso al sacrificio (P=0.54). Consumo de alimento, las cerdas recibieron la misma cantidad de alimento a partir de la aparición de la pubertad hasta la primera inseminación artificial 3.0kg y de la inseminación hasta el sacrificio fue de 2.2kg por lo que no hubo una diferencia significativa, esto indica que las cerdas se encontraban en condiciones similares.

Cuadro 1. Variables de producción: consumo de alimento, peso vivo en cerdas de reemplazo del grupo control y tratamiento a las que se les administró Regumate durante 18 días.

Variable	Tratamiento		Nivel de P
	Control	Regumate	
No. de cerda	17	16	
Consumo de alimento kg/día			
Pubertad-IA	3.0	3.0	-
IA-Sacrificio	2.2	2.2	-
Peso inicio del experimento kg	87±0.9	88±0.7	0.44
Peso pubertad kg	104±2.7	106±2.4	0.47
Peso al sacrificio kg	127±1.4	128±1.5	0.54

IA: Inseminación artificial

Medias con error estándar.

No se encontraron diferencias significativas.

Número de cuerpos lúteos

En el cuadro 2 se muestran los resultados de las variables número y peso de cuerpos lúteos de cerdas de reemplazo, el número de cuerpos lúteos 11.6 ± 0.6 fueron, encontrados en las cerdas de grupo control, mientras que en el grupo al que se administró Regumate durante 18 días se encontraron 13.8 ± 0.6 cuerpos lúteos en promedio, en esta variable se encontró diferencia significativa ($P < 0.01$). No así para la variable peso de cuerpos lúteos donde no se encontraron diferencias entre grupos ($P = 0.87$).

Cuadro 2. Número, peso y tamaño de cuerpos lúteos de cerdas de reemplazo del grupo control y del grupo experimental (administración de Regumate durante 18 días).

Variable	Tratamiento		Nivel de P
	Control	Regumate	
No. de cerdas	17	16	-
No de cuerpos lúteos	11.6 ± 0.6	13.8 ± 0.6	0.01
Peso cuerpos lúteos, gr	6.7 ± 0.5	6.6 ± 0.5	0.87
Peso promedio, gr	0.57 ± 0.3	0.47 ± 0.5	

Medias con error estándar.

Concentraciones de estradiol y progesterona

Las concentraciones de progesterona del primer experimento (figura 2), se midieron a partir de la presentación del estro, en los primeros dos días se obtuvieron muestras con un intervalo de 12 horas, estas concentraciones fueron más bajas en las cerdas de del grupo experimental a diferencia de las concentraciones del grupo control encontrándose diferencia significativa ($P = 0.01$). De la misma manera que en los primeros muestreos (cada 12 horas), las concentraciones de progesterona del grupo experimental se mantuvieron por debajo de las concentraciones del grupo control, encontramos una diferencia significativa ($P = 0.01$) (figura 3).

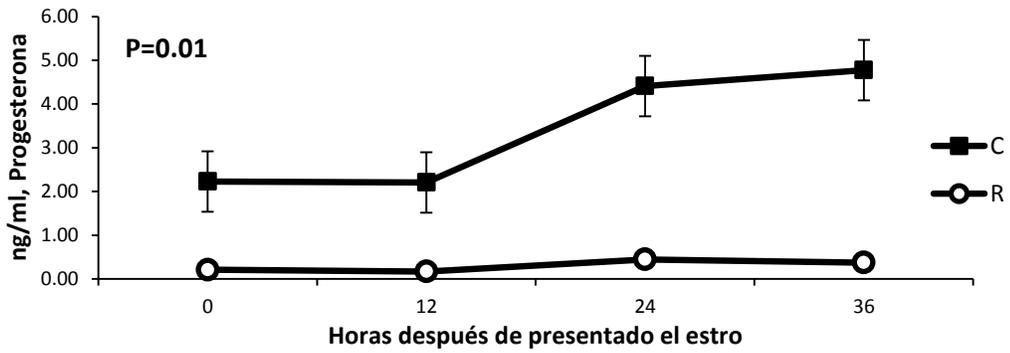


Figura 2. Concentraciones promedio de progesterona de ambos grupos al inicio del estro, 12, 24,36 horas, del grupo control (C) y el grupo experimental (R) se le administró Regumate durante 18días iniciando el tratamiento después de la aparición de la pubertad se encontró diferencia significativa (P=0.01).

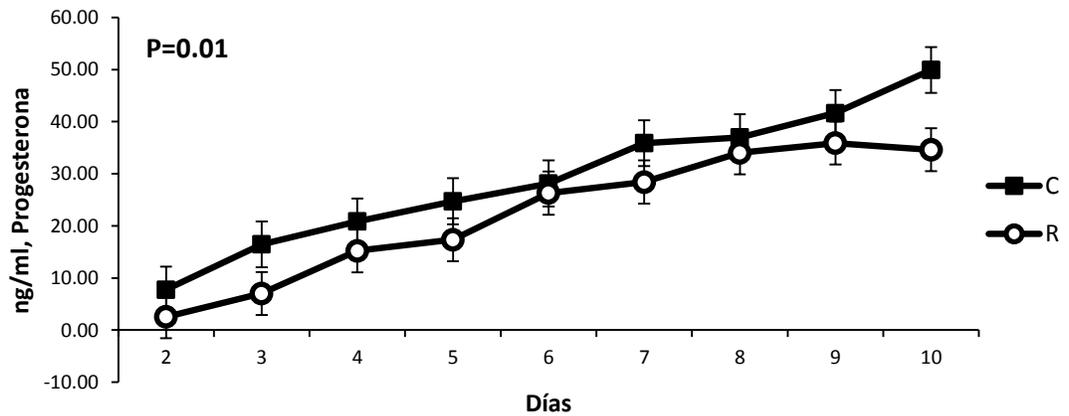


Figura 3. Concentraciones de progesterona a partir del día dos del estro en cerdas de remplazo, grupo control (C) y grupo experimental (R) al que se le administró Regumate durante 18 días después de la aparición de la pubertad. Se encontró diferencia significativa (P= 0.01).

En las concentraciones de estradiol al inicio del estro en las cerdas de reemplazo (figura 4) fueron más altas en las hembras del grupo experimental que en las cerdas del grupo control, se encontró diferencia significativa (**P=0.01**).

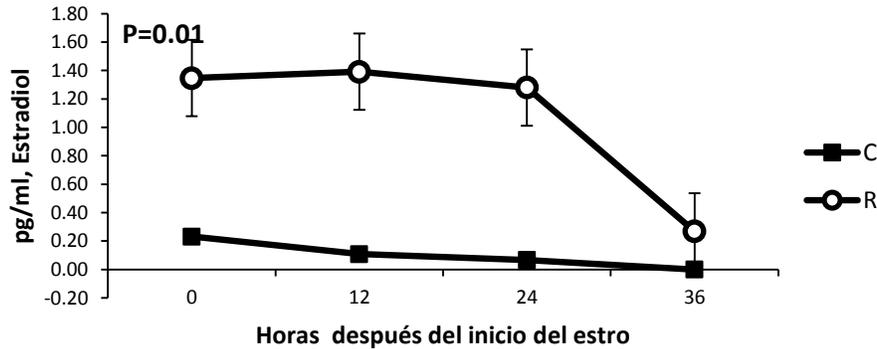


Figura 4. Concentraciones de estradiol al inicio del estro en cerdas de reemplazo, a las 12, 24 y 36 horas del grupo control (C) y del grupo experimental (R) se encontraron diferencias significativas ($P=0.01$).

Porcentaje de gestación, supervivencia embrionaria

El porcentaje de gestación para cerdas de reemplazo fue del 65% en el grupo control y de 50% en el grupo experimental, no se encontró diferencia significativa ($P=0.32$) (Figura 5). En el número de embriones totales fue mayor ($P<0.05$), en el grupo tratado con Regumate que en el grupo control (12.0 ± 1.0 embriones vs 8.4 ± 1.0). En cambio para las variable embriones vivos y embriones muertos no hubo diferencia ($P>0.30$). Estos resultados se muestran en el Cuadro 3.

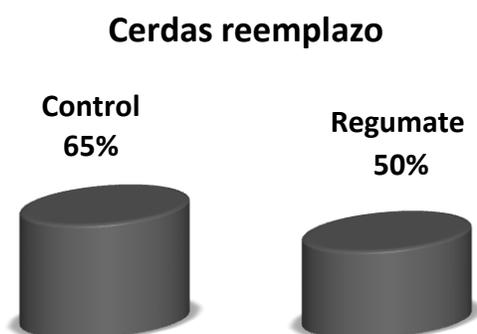


Figura 5. Porcentaje de gestación cerdas de reemplazo después del tratamiento con Regumate (18 días) (P=0.32).

Cuadro 3. Número de embriones vivos, muertos y totales en cerdas de reemplazo para el grupo control y el grupo Regumate (18 días de administración).

Variable	Tratamiento		Nivel de P
	Control	Regumate	
Número total de embriones	8.4±1.0	12.0±1.0	0.05
Embriones vivos	8.3±1.3	10.5±0.5	0.30
Embriones muertos	0.1±0.8	1.5±1.0	0.92

Medias con error estándar.

Segundo experimento

Consumo de alimento, peso vivo y espesor de grasa dorsal.

En el segundo experimento, también se midió el consumo de alimento, el peso de las cerdas al parto uno (antes del tratamiento con Regumate), al parto dos (posterior al tratamiento con Regumate), además del espesor de grasa dorsal y profundidad de músculo a la altura de la última costilla siendo variables de control donde el tratamiento no tuvo efecto. Los resultados se resumen en el cuadro 4, el peso al parto antes del tratamiento (P=0.27) parto subsecuente al tratamiento (P=0.46), no se encontró diferencia estadística. En el espesor de grasa dorsal y profundidad de músculo a la altura de la última costilla no se encontró diferencia significativa, profundidad de grasa dorsal en el parto antes del tratamiento (P=0.42), en el parto subsecuente al tratamiento (P=0.31) y para profundidad de músculo (P=0.28 y 0.39) respectivamente.

El consumo de alimento se midió durante toda la lactancia, desde el día del parto hasta el día del destete, para ambos grupos no se encontró diferencia significativa (P=0.49).

Cuadro 4. Variables de producción, consumo de alimento, peso vivo, espesor de músculo y grasa dorsal (última costilla), grupo control y grupo experimental el cual recibió Regumate durante 7 días a partir del día 21 de lactación.

Variable	Tratamiento		Nivel de P
	Control	Regumate	
Consumo de alimento			
Durante la lactancia Kg/día	6.97± 0.9	6.85±0.23	0.49
Peso parto Kg (1)	196±3.9	190.5±4.0	0.27
Peso parto Kg (2)	189.6±4.42	184±4.50	0.46
Espesor de músculo cm (1)	5.87±0.64	4.87±0.64	0.28
Espesor de músculo cm (2)	3.99±1.3	5.5±1.3	0.39
Espesor de grasa dorsal (cm) (1)	1.48±0.06	1.54±0.04	0.42
Espesor de grasa dorsal (cm) (2)	1.7±0.39	1.21±0.39	0.31

Parto, Espesor de Músculo, Espesor de Grasa dorsal, (1): Antes del tratamiento

Parto, Espesor de Músculo, Espesor de Grasa dorsal, (2): Subsecuente al tratamiento.

Medias con error estándar

Retorno al estro

El porcentaje de las cerdas que regresaron a estro dentro de los 9 días posdestete fue de 96.2% grupo control, el grupo experimental tuvo un 90.3%. Las cerdas de del grupo control entraron en celo en promedio a los 4.8 días después del destete o finalizar el tratamiento y el grupo experimental 6.07 días en promedio.

Crecimiento folicular.

En el cuadro 5 se describen los resultados obtenidos para las mediciones y conteo de folículos. En promedio se encontraron 26.66 ± 2.49 de folículos para las cerdas del grupo control, mientras para el grupo experimental se encontró un promedio de 26.0 ± 2.21 . No se encontraron diferencias ni en el tamaño promedio de folículos ($P=0.73$), ni en la distribución por tamaños.

Cuadro 5. Número de folículos totales, chicos medianos y grandes de cerdas multíparas del grupo control y del grupo experimental tratadas durante 7 días con Regumate a partir del día 21 de lactación.

Variable	Tratamiento		
	Control	Regumate	Nivel de P
Número de cerdas	6	8	—
Número de folículos totales	26.66 ± 2.49	26.0 ± 2.21	0.95
Tamaño promedio (mm)	6.20 ± 0.27	5.99 ± 0.40	0.73
N Folículos chicos	3.83 ± 0.79	4.25 ± 1.17	0.88
N Folículos medianos	7.00 ± 1.06	9.12 ± 1.24	0.36
N Folículos grandes	15.83 ± 2.84	14.06 ± 1.99	0.54

Folículos chicos (<3 mm)

Folículos medianos (3- <6mm)

Folículos grandes (6->9mm)

Medias con error estándar

Número de cuerpos lúteos

La administración del progestágeno Regumate no tuvo efecto en el número de cuerpos lúteos encontrados (Cuadro 6). No se encontró diferencia significativa ($P=0.37$) para peso total y para peso promedio ($P=0.49$).

Cuadro 6. Número, peso y tamaño de cuerpos lúteos de cerdas del grupo control y del grupo experimental al que se le administró Regumate durante 7 días iniciando el día 21 de lactación, cuerpos lúteos diseccionados de ambos ovarios.

Variable	Tratamiento		Nivel de P
	Control	Regumate	
Número de cerdas	6	5	—
N de cuerpos lúteos	18.75±3.11	17.50±0.28	0.78
Peso total (gr)	9.81±1.94	9.95±2.96	0.37
Peso promedio (gr)	0.55±0.12	0.56±0.16	0.49
Tamaño (mm)	9.58±0.89	9.65±1.02	0.40

Medias con error estándar.

Porcentaje de gestación.

En las cerdas multíparas el porcentaje de gestación fue de 86% en las cerdas del grupo control mientras que en las cerdas del grupo experimental que fue de un 82%, no se encontró diferencia significativa ($P= 0.35$) (Figura 6).

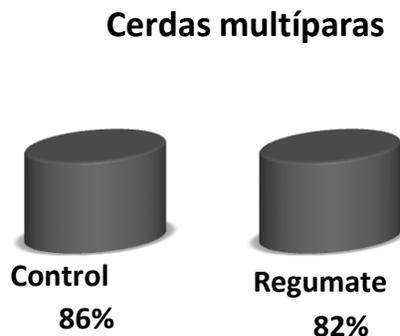


Figura 6. Porcentaje de gestación, cerdas multíparas después del tratamiento con Regumate el cual inició el día 21 de lactación y fue administrado durante 7 días ($P= 0.35$).

Número de Lechones nacidos

En el número de lechones nacidos totales y nacidos vivos posterior al tratamiento no fue diferente entre tratamientos. Lechones nacidos totales 11.1 ± 0.51 grupo control vs 10.9 ± 0.52 en el grupo experimental ($P=0.74$); lechones nacidos vivos 10.0 ± 0.46 grupo control vs 10.2 ± 0.47 ($P=0.78$) del grupo experimental (Cuadro 7).

Cuadro 7. Número de lechones nacidos vivos y totales, cerdas multíparas subsecuente al tratamiento con Regumate durante 7 días iniciando el tratamiento el día 21 de lactación.

Variable	Tratamiento		Nivel de P
	Control	Regumate	
Número de lechones nacidos totales	11.1 ± 0.51	10.9 ± 0.52	0.74
Número de lechones nacidos vivos	10.0 ± 0.46	10.2 ± 0.47	0.78

Medias con error estándar.

No se encontraron diferencias significativas

Concentraciones Progesterona y de Estradiol

Las concentraciones de progesterona que se encontraron en las cerdas multíparas fueron más elevadas en las cerdas del grupo control que en las cerdas del grupo experimental (Regumate) cabe mencionar que es similar a lo encontrado en las concentraciones de progesterona de las cerdas de reemplazo (primer experimento) después del tratamiento, tanto en las cerdas que fueron muestreadas durante el estro como las que se muestrearon hasta el día nueve posdestete, no se encontraron diferencias significativas ($P= 0.38$ y $P=0.11$ respectivamente). Figuras 7 y 8.

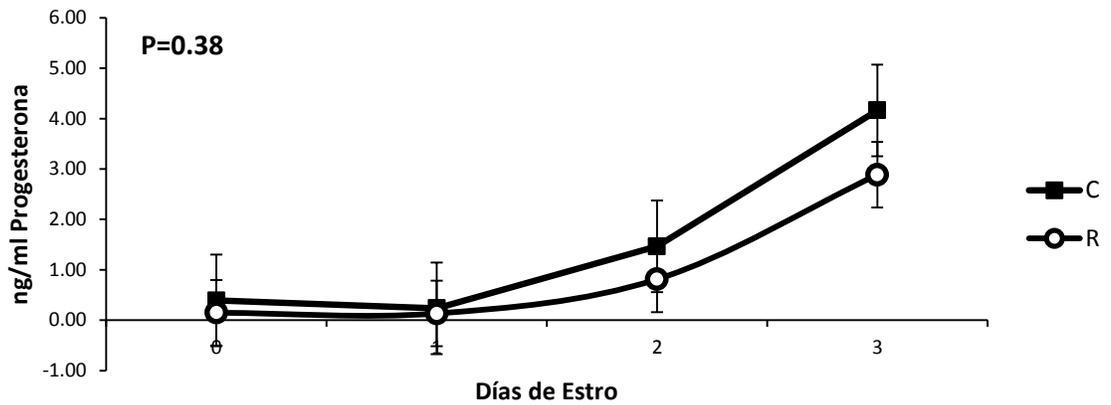


Figura 7. Concentraciones promedio de progesterona durante los días de estro en cerdas multíparas del grupo control (C) y del grupo experimental (R) se le administró Regumate al día 21 de lactación durante 7 días ($P=0.38$).

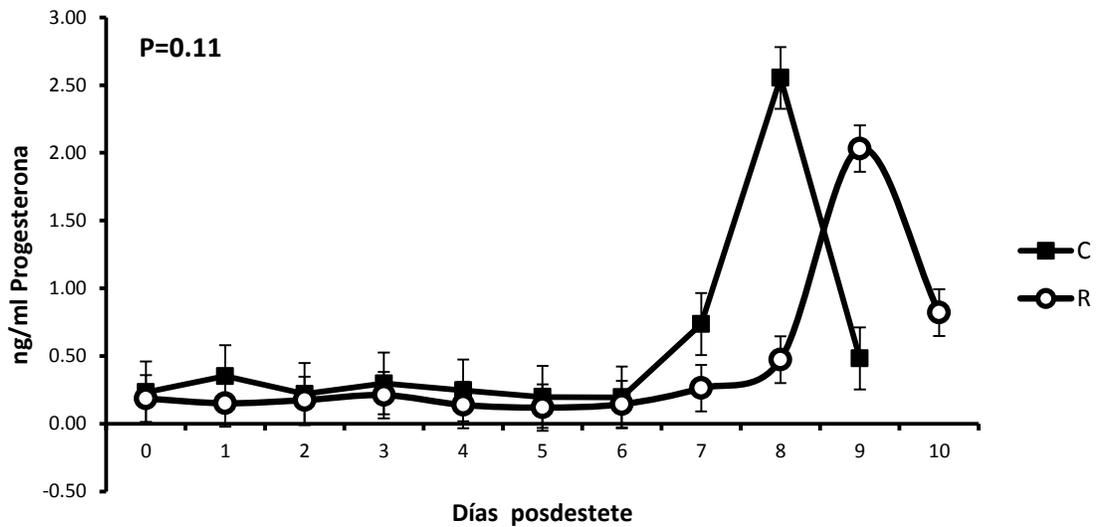


Figura 8. Concentraciones promedio de progesterona de cerdas multíparas, a partir del día 27 de lactación (día 0), hasta el día nueve posdestete (día 9) del grupo control (C) y del grupo experimental (R) se le administró Regumate al día 21 de lactación durante 7 días ($P=0.11$).

Las concentraciones de estradiol en cerdas multíparas durante la presentación del estro (Figuras 9) fueron similares en ambos grupos experimentales ($P=0.54$). Las concentraciones de estradiol un día antes del destete hasta el final del estro y/o al día 9 posdestete no fueron diferentes entre ambos grupos ($P=0.85$, Figura 10).

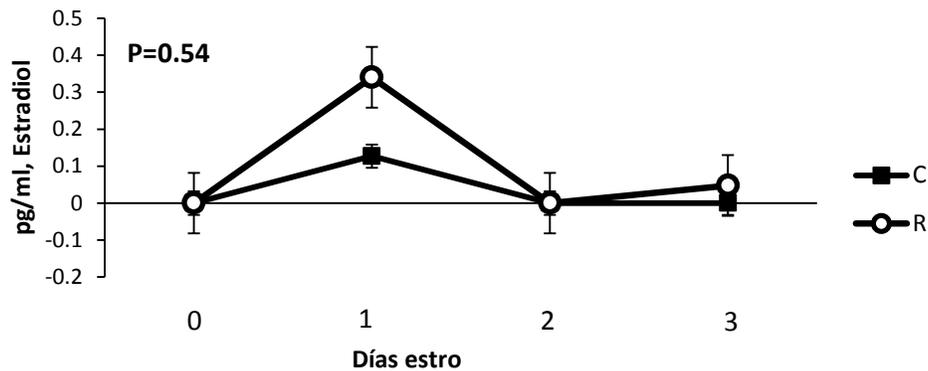


Figura 9. Concentraciones promedio de estradiol, cerdas multíparas muestreadas en los días de estro ambos grupos, grupo control (C) y grupo Regumate (R) al que se le administró Regumate durante 7 días iniciando el tratamiento el día 21 de lactación ($P=0.54$).

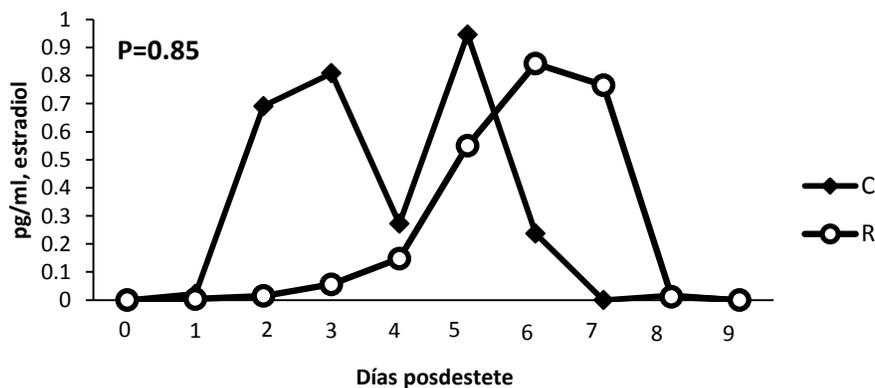


Figura 10. Concentraciones promedio de estradiol, cerdas multíparas muestreadas un día antes del destete (día 0), hasta el día que finalizó el estro y/o al día 9 posdestete, cerdas del grupo control (C) y grupo experimental (R) la administración de Regumate inició el día 21 de lactación durante 7 días ($P=0.85$).

6. DISCUSIÓN

Variables Productivas

El peso vivo, el consumo de alimento, el espesor de grasa dorsal y de músculo, tanto en cerdas de reemplazo como en cerdas multíparas, son factores que pueden afectar negativamente las variables reproductivas de la cerda, si éstas no son adecuadas. En este estudio no se encontraron diferencias en las variables productivas en ambos experimentos, por lo que se puede asumir que no afectaron los resultados, cabe resaltar que las cerdas se mantuvieron en condiciones homogéneas.

Sincronización de estro

En este estudio se confirmó la eficiencia de Regumate para la sincronización (cerdas de reemplazo) y retorno a estro (cerdas multíparas), nuestros resultados a este respecto fueron positivos y concuerdan con resultados encontrados en otros trabajos (Martinant-Botté, 1990), independientemente de la dosis utilizada, no así en las demás variables medidas, por tal razón no se ampliará más en estas variables.

Tasa ovulatoria

Cerdas de reemplazo

La tasa ovulatoria depende del número de folículos reclutados y de la selección folicular. Así mismo puede depender de la raza, nivel heterosis, época del año, edad, nutrición. Los reportes de tasa de ovulación son muy variados, pero generalmente se reportan entre 10-20 ovulaciones en promedio. La tasa ovulatoria en cerdas primíparas puede variar de 12-14 mientras que la cerda multípara puede ser mucho mayor 18-20 (Knox *et al.*, 2003).

En el presente trabajo, la tasa ovulatoria en las cerdas de reemplazo del grupo experimental fue mayor que en las cerdas del grupo control. El número de lechones nacidos en el primer parto es menor que en los partos posteriores, así como la tasa ovulatoria que aumenta considerablemente después de que las cerdas presentan su primer estro (López, 2009). A mayor paridad las cerdas tienen las tasas de ovulación alrededor de 25% más que en las cerdas primerizas incluso por arriba de la capacidad uterina, la tasa de gestación de cerdas primerizas es mucho menor que en las cerdas de

más partos, estas son algunas diferencias que pudieron influir en el resultado diferente entre las cerdas de reemplazo y multíparas.

Cerdas multíparas

A diferencia de las cerdas de reemplazo, en cerdas multíparas no se encontró diferencia significativa en el número de cuerpos lúteos encontrados. Además que en las concentraciones de progesterona no fueron diferentes entre ambos grupos de cerdas multíparas, por esta razón se puede asumir que la función del cuerpo lúteo no fue afectada por la administración de Regumate.

Crecimiento Folicular

Cerdas de reemplazo

Las concentraciones de estradiol encontradas a partir de presentado el estro y hasta las 36 horas después de su inicio fueron más elevadas en el grupo tratado con Regumate, encontramos diferencias significativas, estas concentraciones las podemos relacionar con el crecimiento folicular, ya que en las cerdas de reemplazo no se midieron los folículos directamente como en el caso de las cerdas multíparas, lo que puede indicar que hubo un mayor crecimiento folicular y más homogéneo por lo que el tratamiento con Regumate si tuvo efecto en esta variable. Lo que concuerda con Leeuwen *et al.*, (2011) quienes encontraron crecimiento folicular después del tratamiento con Regumate.

Cerdas multíparas

En trabajos previos al presente, la utilización del progestágeno Regumate ha tenido resultados positivos sobre el crecimiento folicular, a diferencia del presente trabajo donde no se encontró diferencia, Regumate ha sido aplicado en diferentes dosis y en diferentes tiempos en cerdas multíparas (Leeuwen *et al.*, 2010; Leeuwen *et al.*, 2011). Esta puede ser una de las razones por las que no tuvo efecto el tratamiento.

El incremento en las concentraciones plasmáticas de estradiol responde al desarrollo folicular, es decir un aumento en el tamaño de los folículos indica un aumento en las

concentraciones, un folículo de 7-8mm alcanza la máxima producción de estradiol esto se ve reflejado en las concentraciones plasmáticas (Guthrie, 2005).

Uno de los objetivos de este trabajo fue provocar un crecimiento folicular más homogéneo al momento del destete aplicando el tratamiento al final de la lactación en cerdas multíparas, con la finalidad de detener el desarrollo folicular durante los últimos días de lactancia. El desarrollo folicular durante la lactación y después del destete, es un proceso complejo, este desarrollo se recupera progresivamente durante la lactancia, adquiriendo la capacidad de responder a los cambios hormonales en el momento del destete, para iniciar el crecimiento de folículos preovulatorios (López *et al.*, 2009). Parte de nuestro objetivo al aplicar el progestágeno fue homogenizar el crecimiento folicular después del destete. En el segundo experimento se midieron y contaron los folículos de forma directa, en el número de folículos no se encontró diferencia significativa. En el caso de las concentraciones de estradiol que se relacionan directamente con el tamaño de los folículos, no hubo diferencia significativa entre tratamiento.

El efecto positivo de Regumate después del destete sobre el comportamiento reproductivo posterior al tratamiento puede depender de la duración del tratamiento en relación con el tamaño de los folículos después del destete (Leeuwen *et al.*, 2011), además podría ser afectado por el momento en el que es aplicado el tratamiento.

En anteriores trabajos han aplicado el tratamiento con Regumate después del destete o bien un día antes, el trabajo de Leeuwen *et al.*, (2010) concluyó que el crecimiento folicular se vio afectado, encontrando que al inicio de la fase folicular y al día cuatro las cerdas que fueron tratadas con Regumate tuvieron folículos más grandes que el control.

Leeuwen *et al.*, (2011) en un trabajo reciente con cerdas tanto multíparas como primíparas, utilizaron dos dosis de Regumate (40mg y 20mg a diferentes tiempos (3, 7, 9 días de administración) iniciaron uno de los tratamientos tres días antes finalizar la lactación, siendo este trabajo el que más se acerca al presente cuyo objetivo fue de detener el crecimiento folicular. Encontró que el tamaño de folículos fue similar al día tres de tratamiento. Las cerdas multíparas tuvieron más folículos grandes en el inicio de la

fase folicular que las cerdas primíparas independientemente del tratamiento (Regumate). La conclusión de este trabajo es que en cerdas multíparas no se detuvo el crecimiento folicular antes del destete, esto es similar con lo que se encontró en el presente trabajo.

Leeuwen *et al.*, (2011) sugiere que el efecto de Regumate sobre el crecimiento folicular depende del tamaño de estos al momento del destete, se puede esperar que sólo haya efecto positivo en cerdas con folículos pequeños siempre y cuando la duración del tratamiento sea lo suficiente para su crecimiento, con esto se puede asumir que el tratamiento podría ser extendido después del destete.

Cabe recordar que el efecto negativo de Regumate que ejerce sobre la supresión del desarrollo folicular es menor que el de la progesterona endógena, podría ser una de las razones principales para no haber logrado disminuir el crecimiento de los folículos antes del destete. Hasta el momento no se han reportado trabajos donde las condiciones sean similares al presente trabajo en el segundo experimento, donde se aplicó el tratamiento durante 7 días antes del destete encontramos que el número folículos del grupo experimental no fue mayor que el del grupo control.

Función Lútea y Supervivencia embrionaria

Cerdas de reemplazo

Las concentraciones de progesterona encontradas en el grupo tratado con Regumate fueron menores que en el grupo control, esto sugiere que el crecimiento folicular terminal y el tiempo de ovulación fueron más homogéneos en estas cerdas.

Un elemento limitante en la eficiencia reproductiva en cerdos es la pérdida de embriones que se da durante la gestación temprana. La tasa de ovulación en las cerdas cerca de un 30 o 40% mayor del tamaño de la camada (Pérez *et al.*, 1997), la diferencia se debe a que existe una pérdida por mortalidad, la mayor parte de la mortalidad sucede en los primeros 30 días de gestación, después de este periodo la mortalidad es menor cercana a un 3% (Lambert *et al.*, 1991). Uno de los objetivos de este trabajo fue aumentar la supervivencia embrionaria mediante el efecto positivo del tratamiento en la función del cuerpo lúteo, de

manera que la progesterona mantuviera un ambiente propicio para la supervivencia de los embriones, la progesterona es necesaria durante toda la gestación, estimula el desarrollo del endometrio y la secreción de este para la nutrición del embrión. Por esta razón la importancia del desarrollo del cuerpo lúteo. Por lo que se dice que existe una relación positiva entre las concentraciones de progesterona durante la gestación temprana y la supervivencia embrionaria. Algunos experimentos han demostrado que animales con bajos niveles de progesterona en los primeros días de gestación tienen mayor posibilidad de morir o de tener un menor desarrollo. Concentraciones insuficientes de progesterona durante la implantación en la gestación temprana que puede ocurrir durante la fase lútea deficiente lo que puede traer como consecuencia un fallo en la gestación (Daya, 2009).

En el presente trabajo se encontraron 3.6 más en el grupo tratado con Regumate comparado con el grupo control en cerdas de reemplazo. Este resultado se puede fundamentar en que se encontraron mayor número de cuerpos lúteos lo que se relaciona con las concentraciones de progesterona circulantes las que propiciaron un mejor ambiente uterino al inicio de la gestación. Esto concuerda con trabajos realizados (Martinat- Botté, 1990; Ashworth, 1991) entre otros, aunque con algunas diferencias en el manejo y tipo de animales utilizados.

Tamaño de camada al parto subsecuente

Cerdas multíparas

No se encontró diferencia entre grupos en esta variable, Marsteller *et al.* (1999), la supervivencia embrionaria parece ser el factor limitante del potencial tamaño de la camada en el parto siguiente. El tamaño de la camada, es uno de los factores más importantes de la reproducción desde el punto de vista económico en la industria porcina, existen factores que lo determinan, como por el porcentaje de ovulación, supervivencia embrionaria y la capacidad uterina (Marsteller *et al.*, 1996). En el presente experimento no se vio mejorado el tamaño de camada al parto posterior al tratamiento en cerdas multíparas, no se encuentra información disponible acerca del efecto de Regumate para

esta variable bajo las condiciones de nuestro trabajo, no así en cerdas de reemplazo en donde se han encontrado aumento en el número de lechones al parto posterior a la administración de éste, asumiendo que las cerdas de nuestro trabajo hubieran llegado al final de la gestación y con base en el resultado positivo encontrado en el número de embriones y cuerpos lúteos de las cerdas del grupo experimental, es de esperar que se hubiera tenido un mayor tamaño de camada, con respecto a las cerdas del grupo control lo que concordaría con lo encontrado en trabajos anteriores (Martinat- Botté *et al.*, 1989, 1990, 1995, Gonclaves *et al.*, 2004). Probablemente el tiempo de administración del tratamiento, que solo fue de 7 días y antes del destete esto pudo haber influido en los resultados, ya que en algunos trabajos donde se encontraron resultados positivos el tiempo de exposición a Regumate fue más extenso y el tratamiento fue aplicado después del destete o bien un día antes de éste.

Es notable la diferencia entre cerdas de reemplazo y cerdas multíparas. Uno de los factores que pudieron afectar en las cerdas multíparas para no encontrar el efecto que en las cerdas primerizas, es posiblemente que las cerdas de reemplazo aún no han manifestado el potencial reproductivo que las cerdas multíparas ya han mostrado. Por lo que se espera que las cerdas de reemplazo con tratamiento respondan de manera positiva a diferencia de las cerdas multíparas.

7. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en el presente estudio y bajo las condiciones del presente trabajo, se concluye que la utilización del progestágeno (Regumate) previo al inicio de la gestación aplicado durante 18 días, tiene efecto positivo en las cerdas de reemplazo, además de sincronizar la aparición del estro, en el desarrollo folicular terminal que fue más homogéneo y en la función del cuerpo lúteo que propició un ambiente uterino más adecuado para los embriones, permitiendo además que las cerdas inicien su vida reproductiva a una edad más temprana, pudiendo también tener grupos de parición más homogéneos.

Concluimos también que bajo las condiciones del experimento en cerdas multíparas, utilizando el progestágeno Regumate durante 7 días antes del destete, no provocó un crecimiento folicular más homogéneo, ni modificó la función lútea por lo que no se vio afectado el tamaño de camada al parto subsecuente.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Arthur's. 2001. *Veterinary Reproduction and obstetrics*. Eighth edition Elsevier.
- Ashworth CJ, Finch AM, Page KR, Nwagwu MO, McArdle HJ 2001. Causes and consequences of fetal growth retardation in pigs. *Reproduction Supplement*. 58:223-246.
- Ashworth CJ, Haley CS, Wilmut I. 1991. Effect of Regumate on ovulation rate, embryo survival and conceptus growth Meishan and Landrace X Large white gilts. *Theriogenology* 32:2 433-443.
- Bazer FW, Vallet JL, Roberts RM, Sharp DC, and Tatcher WW. 1986. Role of conceptus secretory products in establishment of pregnancy. *J Reprod. Fert.* 76, 841-850.
- Biserka Mulac-Jericevic and Orla M C. 2004. Reproductive tissue selective actions of progesterone *Reproduction* 128 139–146.
- Bracken CJ, Radcliff RP, Mc Cormack BL, Keisler DH and Lucy MC. 2006. Decreased follicular size during late lactation caused by treatment with charcoal-treated follicular fluid delays onset of estrus and ovulation after weaning in sows *J Anim Sci* 84: 2110- 2117
- Britt JH, Armstrong JD, Cox NM, Esbensha KL. 1985. Control of follicular development during and after lactation in sows. *Journal of Reproduction and Fertility supplement* 33 37- 54
- Caird E. Rexroad, Jr. and Casida L. E. 1975 Ovarian follicular development in cow, sow and ewes in different stages of pregnancy as affected by number of corpora lutea in the same ovary. *Journal of Animal Science*, vol. 41, no. 4.
- Cárdenas H. and Pope W. F. 2002. Control of ovulation rate in swine. *J. Anim. Sci.* 8 (E. Suppl. 1):E36–E46.
- Carson DD, Bagchi I, Dey SK, Enders AC, Fazleabas AT, Lessey BA, Yoshinaga K: Embryo implantation. Page 148-151 in *Physiology of Reproduction*. Knobil and Neill's, ed Academic Press.

- Christenson RK, Ford JJ, Redmer DA: Maturation of ovarian follicles in the prepubertal gilt. Abstrac, Journal of Reproduction and Fertility. Supplement (1985, 33:21-36).
- Committee for medicinal products for veterinary use Altrenogest. 2007
- Cummingsd AM. And Yochimt JM. 1984 Differentiation of the Uterus in Preparation for Gestation: A Model for the Action of Progesterone. Department of Physiology and Cell Biology, University of Kansas, U.S.A. J. theor. Biol. 106 353
- David G. A and Robert W. 1997. Ovarian follicular dominance: the role of intraovarian growth factors and novel proteins. Reviews of Reproduction 2, 139–146
- Daya S. 2009. Luteal support: Progestogens for pregnancy protection. Maturitas 65S S29-S34.
- De Mayo JF, Lee YK. 2004. Focus on implantation Animal models of implantation. Society for reproduction and fertility.
- De Rensis F., Morag GH. and Foxcroft GR. 1993 Suckling-Induced Inhibition of Luteinizing Hormone Secretion and Follicular Development in the Early Postpartum Sow. Biology of Reproduction 48, 964-969.
- Diario Oficial de la Federación 2002. Norma Oficial Mexicana-NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio, México.
- Dinny Graham J. and Christine L. C. 1997. Physiological Action of Progesterone in Target Tissues Endocr. Rev. 18: 502-519, doi: 10.1210/er.18.4.502
- Eppig JJ. 2001. Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals. Animal Reproduction. 122:829-838.
- Eppig JJ. Viveiros MM, Bivens MC. 2004. The Ovary. Regulation of mammalian oocyte maturation. Elsevier.
- Estill CT. 2000. Current concepts in estrus synchronization in swine. J. Anim. Sci. 77: 1-9

- Falceto MV, Duque C, Alfonso J, Espinoza E. 1992. Variaciones fisiológicas de la funcionalidad ovárica en la cerda. Dpto. Patología Animal. Facultad de Veterinaria de Zaragoza, España.
- Fortune J.E. 1994 Ovarian Follicular Growth and Development in Mammals. *Biology Of Reproduction* 50, 225-232.
- Fortune J.E. 2004. The early stages of follicular development activation of primordial follicles and growth of preantral follicles. *Animal Reproduction Science* 82–83 461–477.
- Foxcroft GR. 2003 Pharmacological considerations for optimizing reproductive efficiency. Canada Research Chair in Swine Reproductive Physiology, Swine Research and Technology Centre, University of Alberta, Canada.
- Gandolfi F, Brevini TAL, and Moor RM. 1989. Effect of oviduct environment on embryonic development. *J. Reprod. Fertil.* 38: 107–115 (Suppl).
- Goncalves DS, Wentz I, Pandolfo F and Barioni W. 2004 Early-weaned sows: Altrenogest therapy, estrus, ovulation, and reproductive performance. *Animal Reproduction Science* 84 407- 413.
- Gordon DN, Jennifer LJ, Patrick JS, Keith R, Eric WM. 2000. Mechanism controlling the function and Life Span of the Corpus Luteum. *Physiological Reviews* vol. 80 No 1.
- Goyeneche AA, Deis RP, Gibori G, Telleria CM. 2003 Progesterone promotes survival of the rat corpus luteum in the absence of cognate receptors. *Biol Reprod* 68: 151–158.
- Grant S. A, MG, Hunter and Foxcroft GR. 1989. Morphological and biochemical characteristics during ovarian follicular development in the pig. *J Reprod. Fert.* 86, 171- 183
- Gregory F, Erickson and Shimasaki S. 2000. The Role of the Oocyte in Folliculogenesis. *TEM* Vol. 11, No. 5
- Gupta A, Bazer FW, Jaeger LA. 1996. Differential expression of beta transforming growth factors (TGF β 1, TGF β 2 and TGF β 3) and their receptors (Type I and Type II) in peri-implantation porcine conceptuses. *Biol Reprod* 56:796-802.

- Guthrie HD. 2005. The follicular phase in pigs: Follicle populations, circulating hormones, follicle factors and oocytes. *J Anim Sci.* 83:E79-89
- Hafez B, Hafez ESE. (2002): Reproducción e inseminación artificial en animales. 7a ed. Mc Graw Hill.
- Hedrick JL and Wardrip NJ. 1987. On the macromolecular composition of the zona pellucida from porcine oocytes. *Dev Biol* 121:478-488.
- Henricks DM, Guthrie HD. Handlin DL. 1971. Plasma Estrogen, Progesterone and Luteinizing Hormone levels during the Estrous Cycle in Pigs Departments of Food Science and Animal Science, clemson University.
- Hirshfield AN. 1984. Stathmokinetic analysis of granulosa cell proliferation in antral follicles of cyclic rats. *Biol Reprod.* 31:52-58.
- Hunter MG and Paradis F. 2009 Intra-follicular regulatory mechanisms in the porcine ovary. *Control of Pig Reproduction VIII.*
- Hunter G, Robinson RS, Mann GE, Webb R. 2004. Endocrine and paracrine control of follicular development and ovulation rate in farm species. *Animal Reproduction Science* 82-83 461-477.
- Jaeger LA, Johnson GA, Bazer FW, Garlow JG. 2001. Functional analysis of autocrine and paracrine signaling at the uterine-conceptus interface in pigs. *Society for reproduction and fertility.*
- Jeanine G, Benjamin R E, Matthew CP and Douglas TC. 2006. Comparative analysis of follicle morphology and oocyte diameter in four mammalian species (mouse, hamster, pig and human). *Journal of Experimental & Clinical Assisted Reproduction* 3:2 doi 10.1186/1743-1050-3-2
- John JP. 2006. Multiplicity of Progesterone's Actions and Receptors in the Mammalian Ovary *Biology of Reproduction* 75, 2-8.
- Killen JH, Christenson RK and Ford JJ. 1992. Ovarian follicular changes after weaning in sows. *J ANIM SCI* 70:2801-2808.

- Knobil. 2006. *Physiology of Reproduction*. Chapter 11 Ovulation. Third edition. Elsevier.
- Knox RV. 2005. Recruitment and selection of ovarian follicles for determination of ovulation rate in the pig. *Domestic Animal Endocrinology* 29 385–397.
- Koutsotheodoros F. Hughes PE, Dunshea FR ,Fry RC, Tilton JE. 1998. The effects of post-weaning treatment Progestagen (Regumate) of early weaned primiparous sows on subsequent reproductive performance. *Anim Reprod Sci.* 71-79.
- Leeuwen Van J.J.J., Williams SI, Kemp B., Soede N.M. 2010. Post-weaning Altrenogest treatment in primiparous sows; the effect of duration and dosage on follicular development and consequences for early pregnancy. *Animal Reproduction Science* 119 258-264.
- Leeuwen Van J.J.J., Williams SI, Martens RTM., Jouquin J, Driancourt MA, Kemp B, Soede NM. 2011. The effect of different postweaning altrenogest treatments of primiparous sows on follicular development, pregnancy rates , and litter sizes. *J. Anim. Sci.* 89:397-403.
- Leeuwen Van J.J.J., Williams SI, Martens RTM, Jouquin J, Driancourt MA, Kemp B, Soede NM 2011. Effects of altrenogest tratments before and after weaning of follicular development, farrowing rate, and litter size in sows.
- López OA, Saballo A, Medina I, Márquez YC y Márquez AA. 2009. Perfil Sérico de las Hormonas Luteinizante, Folículo Estimulante y 17b-Estradiol en Cerdas Landrace x Large White Durante el Pre-parto, Lactancia y Posdestete *Rev. Fac. Cs. Vets. UCV.* 50(1):43-51.
- Lucy MC, Liu J, CK, Bracken CJ. 2001. Ovarian follicular growth in sows. *Journal Reproduction supplement* 5.
- Madej A. Brandt Y. Einarsson S. 2009 Endocrine dynamics associated whit follicle development in pigs: a review. *Anim. Reprod.*, vol. 6, n.1, 135-143.
- Madej A, Lang A, Brandt Y, Kindahl H, Madsen MT, Einarsson S. 2005 Factors regulating ovarian function in pigs. *Domestic Animal Endocrinology* 29 346-361.

- Marchnik M., Hegger I., Kietzmann M., Thevis M., Guddat S. and Schanzae W. 2007
Pharmacokinetics of altrenogest in horses. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 30, 86-90.
- Marsteller TA, Armbruster GA, Anderson, DB, Wuethrich AJ, Taylor JL., Symanowsky, JT.
1999. Effect of lactation length on ovulation rate and embryo survival in swine.
Swine Health Prod. 5:49-56.
- Martinat – Botté F. Forgerit C, Huguette C, Macar C, Poirier P, Nolibois P, Terqui M.
1995. 1. Amélioration de la fertilité et de la productivité après un traitement
progestatif court. *Journées Rech. Porcine en France*, 27, 45-50.
- Martinat-Botté F. Bariteau, Forgerit C, Moreau A, Terqui M and Signoret JP. 1990.
Control of oestrus in Gilts II. Sincronization de Oestrus whit a Progestagen,
Altrenogest (Regumate): Effect on Fertility and Litter Size. *Animal Reproduction
Science*, 22: 227-233.
- Martinat-Botté F, Bariteau, Forgerit C, Bussiere J, Maurel MC, Plat M, Macar C, Poirier C,
Nolibois P, Terqui M. 1995 Utilisation d'un progestagène (Régumate) au moment du
tarissement de la primipare. 2 Mécanismes Physiologiques. *Journées Rech. Porcine
en France*, 27, 51-56.
- Martin PM, Sutherland AE, Van Winkle LJ 2003. Aminoacid transport regulates blastocyst
implantation. *Biol of Reprod.* 69:1101-1108.
- Moor RM. 1986. Effect of embryo on corpus luteum function. *Agricultural Research
Council Unit of Reproductive Phisiology and Biochemistry, University of Cambridge,
Englan* 27:97-118.
- Morbeck DE, Esbenshade KL, Flowers WL, Britt JH. 1992. Kinetics of follicle growth in the
prepuberal gilt. *Biol Reprod*; 47: 485-91
- National Research Council. 1998. *Nutrient Requirements of Swine.* 10th ed.
Washington(DC): National Academy Prees.

- Niswender GD. 2002. Molecular control of luteal secretion of progesterone. *Reproduction* 123, 333–339
- Oxender WD, Colenbrander B, Wiel DFM and Wensing CJG. 1979. Ovarian Development in Fetal and Prepubertal Pigs. *Biology of Reproduction* 1, 715-721.
- Polge C 1980. An assessment of techniques for the control of estrus and ovulation in pigs. *Int. Symp. Sterioids in Animal Production*. 75-84.
- Prunier A, Quesnel H. 2000. Nutritional Influence on the Hormonal Control of Reproduction in female Pigs. *Livestock Production Science* 63, 1-16.
- Quesnel H, Pasquier A, Mounier AM and Prunier A. 1998. Influence of feed restriction during lactation on gonadotropic hormones and ovarian development in primiparous sows.
- Rodgers R J and Irving-Rodgers HF. 2010 Morphological classification of bovine ovarian follicles. The Robinson Institute, Research Centre for Reproductive Health. *Reproduction* 139: 309–318.
- Rodriguez JL Vallet and Ziecik. 2009. Control of Pig Reproduction VIII Society of Reproduction and Fertility Volume 66.
- Ryanla DP, Yaakubt H, Harringtonz D and Lynch PB, Teagasc, Moorepar, Cork C. 1994. Follicular development during early pregnancy and the estrous cycle of the sow *Theriogenology* 42:623-632, 1994.
- Schams D, Berisha B, Kosmann M, Einspanier R, Amselgruber WM. 1999. Possible role of growth hormone, IGFs, and IGF-binding proteins in the regulation of ovarian function in large farm animals. *Domest Anim Endocrinol* 12:279-285.
- Schwarz T, Kopyra M and Nowicki J. 2008. Physiological mechanisms of ovarian follicular growth in pigs- a Review. *Acta veterinaria Hungarica* 56 (3) 369- 378.
- Schneider F, Tomek W, Gründker C. 2006. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and its natural analogues: A review. *Theriogenology* 66, 691-709.

- Soede NM, Bouwman EG, Langendijk P, Laan I van der, Kanora A and Kemp B. 2007. Follicle Development during Luteal Phase and Altrenogest Treatment in Pigs *Reprod Dom Anim* 42: 329–332
- Soede NM, Helmond FA, Kemp B. 1994. Perioovulatory profiles of estradiol, LH and progesterone in relation to oestrus and embryo mortality in multiparous sows using transrectal ultrasonography to detect ovulation. *Journal of Reproduction and Fertility* 101 633- 641.
- Solorio L JS, Villa Godoy A, Padilla EG, Olea RP, Vera A HR 2002. Uso de dos esquemas de aplicación de gonadotropinas en cerdas sometidas a destete en el día diez posparto: Efecto en la eficiencia y funciones reproductivas *Veterinaria México*, vol. 33, núm. 3, julio-septiembre 219-235, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Spencer TE and Bazer FW. 2004. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2:49.
- Stocco CO, Deis RP 1998. Participation of intraluteal progesterone and prostaglandin F2 alpha in LH-induced luteolysis in pregnant rat. *J Endocrinol* 156(2):253-259.
- Tamanini C, De Ambrogi M. 2004. Angiogenesis in developing follicle and corpus luteum. *Reproduction Domestic Animal*. 39:206-16
- Telleria CM. 2006. Can luteal regression be reversed? *Reproductive Biology and Endocrinology* 4:53.
- Thomas ES, and Fuller W B. 2004 Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2:49, 10.1186/1477-7827-2-49.
- Wilson ME, Ford SP 2001. Comparative aspects of placental efficiency. *Reproduction Supplement*.58:223-232.
- Ziecik AJ. 2002. Old, new and the newest concepts of inhibition of luteolysis during early pregnancy in pig. *Domestic Animal Endocrinology* 23. 265-275.