



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA  
PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

**EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE ECG Y HCG EN LOS CAMBIOS  
HISTOLÓGICOS EN EL OVARIO.**

TESIS QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

MARIANA CALLES GARCÍA

TUTOR PRINCIPAL

MARÍA ELENA TRUJILLO ORTEGA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

COMITÉ TUTOR

DRA. GRISELDA VALDEZ MAGAÑA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DR. FRANCISCO ERNESTO MARTÍNEZ CASTAÑEDA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

## Resumen

El compuesto de gonadotropinas, Veterin Anestro® que contiene 400 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG) y 200 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG) se usa para inducir el celo en cerdas primerizas, sin embargo, las respuestas a este como, tamaño de camada, presentación de signos de estro, entre otros pueden ser variables. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de este compuesto de gonadotropinas sobre el tamaño folicular en dos etapas del ciclo estral: proestro y estro. Se utilizaron cuatro grupos (n=3 por grupo con n=10 observaciones cada uno). Los grupos 1 y 3 fueron tratados con una combinación de 400 UI eCG más 200 UI de hCG (4 ml de Veterin Anestro®) en etapa de proestro: el día 17 del ciclo estral (Grupo 1) y etapa de estro día 0 (grupo 3). Los grupos 2 y 4, no recibieron tratamiento en etapa de proestro y estro, respectivamente. En todos los grupos (n=12) se detectó el celo con exposición al verraco durante 15 min dos veces al día, antes y después de iniciado el tratamiento.

Todas las cerdas nulíparas fueron sacrificadas en la etapa de ciclo indicada (de 3 a 6 días después del tratamiento), para extraer los ovarios y analizar el crecimiento folicular a través de la tinción Hematoxilina y Eosina con ayuda de un microscopio óptico. Como resultado se encontró que el tratamiento con gonadotropinas exógenas no afectó la cantidad de folículos encontrados en la etapa proestro (Grupos 1 y 2) ( $P < 0.05$ ). Sin embargo, por efecto de tratamiento en la cantidad de folículos terciarios, así como en el total de estructuras foliculares y no foliculares se encontró diferencia estadística significativa ( $P < 0.05$ ) en la etapa de estro (Grupos 3 y 4). Por otro lado, hubo diferencia

estadística significativa ( $P < 0.05$ ) en el tamaño de folículos primarios, secundario, terciario y cuerpo lúteo después del tratamiento en las diferentes etapas.

Bajo las condiciones de este estudio, podemos concluir que la observación de las estructuras ováricas a través de la histología no mostró cambios en la cantidad de folículos en la etapa de proestro sin embargo hubo diferencia en la cantidad de folículos terciarios en la etapa de estro por efecto del tratamiento.

Asimismo, mostró que la administración de eCG+hCG provocó cambios morfométricos en las diferentes estructuras ováricas, principalmente sobre los folículos secundarios y terciarios en ambas etapas.

Palabras clave: Crecimiento folicular, Ovarios, eCG y hCG, Gonadotropinas exógenas, Proestro, Estro.

## Cuadro de contenido

<i>Resumen</i> .....	2
<i>1. Introducción</i> .....	5
<i>2.Revisión de literatura y planteamiento del problema</i> .....	8
2.1 Generalidades reproductivas de la cerda .....	8
2.2 Anatomía general .....	8
2.2.1 Anatomía e histología vaginal .....	10
2.2.2 Anatomía e histología ovárica .....	11
2.3 Ovogénesis y foliculogénesis.....	12
2.4 Ciclo reproductivo de la cerda .....	16
2.5 Dinámica folicular .....	19
2.6 Regulación hormonal .....	20
2.6.1 GnRH .....	20
2.6.2 LH y FSH.....	21
2.6.3 eCG y hCG.....	25
2.7 Manipulación del ciclo estral .....	27
2.7.1 Métodos físicos .....	27
2.7.2 Métodos químicos .....	28
2.8.1 Progestágenos .....	31
2.8.2 Gonadotropinas.....	32
2.9 Veterin anestro®.....	34
<i>3.Objetivos</i> .....	35
Objetivo general.....	35
Objetivos específicos.....	35
<i>4.Hipótesis</i> .....	35
<i>5.Material y métodos</i> .....	35
<i>6.Resultados</i> .....	41
<i>7.Discusión</i> .....	46
<i>8.Conclusión</i> .....	58
<i>9.Recomendaciones</i> .....	58
<i>10.Referencias</i> .....	60
<i>11.Lista de cuadros</i> .....	69
<i>12.Lista de imágenes</i> .....	70
<i>13. Anexo 1</i> .....	70

## 1. Introducción

En la industria porcina intensiva, la productividad del hato reproductor depende en gran medida del rendimiento reproductivo de la cerda de forma individual, entre los indicadores productivos que más se utilizan se tiene el tamaño de la camada, la tasa de partos y el intervalo entre el destete al estro (Tummaruk, 2003), además del número de lechones destetados por hembra por año (Sechin *et al.*, 1999) y la fertilidad (Carrera, *et al.*, 2019).

La “cerda ideal” en la actualidad, es la cerda que produce cuatro toneladas, (3,629 kg) de carne cada año; esto se consigue trabajando en la eficiencia de la cerda con respecto a diferentes indicadores reproductivos (Vega, 2020), ya mencionados anteriormente.

Los avances genéticos, la alimentación y la modernización de los sistemas productivos porcinos (Gaspa, 1997) los cuales se pueden observar en el cuadro 1.

Cuadro 1 Datos de 2008 -Primer trimestre a 2020 -segundo trimestre (12 AÑOS), México.

Parámetro	2008-1	2020-2
Lechones destetados /cerda productiva y año (nº)	24.61	29.93
Nacidos totales / camada	12.23	15.71
Repeticiones (%)	18.84	13.36
Intervalo destete - 1ª cubrición (días)	6.67	5.94
Intervalo destete - cubrición fértil (días)	10.46	9.07
Intervalo entre partos (días)	147	149
Edad de la cerda al 1r parto (días)	387	387
Edad de la cerda a la baja (meses)	31.61	31.47
Partos / cerda de baja (nº)	4.46	4.31

Fuente: Datos obtenidos del comparador de datos productivos de tres3tres.com (3tres3, 2020).

Por lo mismo, el control del ciclo estral ha sido objeto de diversos estudios, con resultados variantes lo cual limita a los especialistas y productores a la toma de decisiones para incrementar el desarrollo folicular y por ende la ovulación (Gamba, et al., 2015).

En la actualidad, son utilizados diferentes métodos para la sincronización del ciclo estral en la cerda que incluyen: prácticas de manejo como detección de estro con macho celador y uso de fármacos de origen esteroidal y gonadotrópico son las más comunes. La sincronización del estro tiene como propósito conocer la fecha exacta de inicio del estro, así como reducir intervalos productivos (Trujillo Ortega, 2004) y manejar un gran grupo de animales al mismo tiempo, lo cual se logra al utilizar dichos productos. Sin embargo, la efectividad en la respuesta de los animales tratados sigue dependiendo del individuo, a pesar de la eficacia de los productos utilizados (Gaspa, 1997; Knauer y Van Heugten, 2020)

El uso de gonadotropinas exógenas para inducir o sincronizar estro en cerdas es una práctica que se realiza desde hace años, con el objeto de proveer métodos sencillos y de bajo costo que permitan inducir o sincronizar el estro sin provocar patologías reproductivas, fundamentalmente a nivel ovárico (Anderson *et al.*, 1994).

Para llegar a conseguir el celo y la ovulación, la cerda requiere utilizar hormonas con carácter folículo estimulante y luteinizante. Las gonadotropinas eCG (gonadotropina coriónica equina, antes llamada PMSG, (gonadotropina

sérica de yegua gestante) y hCG (gonadotropina coriónica humana) presentan actividad similar a la que producen la FSH (hormona folículo estimulante) y LH (hormona luteinizante), respectivamente, durante el proestro y estro de la cerda (Falceto *et al.*, 2014). Las gonadotropinas son esenciales para la función ovárica actuando a través de la interacción con sus receptores, en la regulación del crecimiento y la maduración folicular así como en la esteroidogénesis (Hutu, *et al.*, 2020). El tratamiento en cerdos más utilizado para la inducción de estro desde los años 1970 incluye 400 UI de eCG y 200 UI de hCG.

Por otro lado, es importante conocer o determinar la fase del ciclo estral en la que se encuentra la cerda. Para lo cual, se puede utilizar la citología vaginal exfoliativa, esta sirve como indicador de la etapa del ciclo estral en muchas especies pues refleja la influencia de los estrógenos y la progesterona (Papanicolaou, 1956). La mucosa vaginal participa en las variaciones cíclicas del tracto genital, en ella se expresan fenómenos de reconstrucción morfológica a nivel del epitelio y con base en las características morfológicas celulares es posible identificar fácilmente cambios en un frotis vaginal (Anderson *et al.*, 1994).

Las células epiteliales vaginales fueron clasificadas según su ubicación en la mucosa vaginal como células parabasales, intermedias, intermedias superficiales y superficiales o escamosas (Banks, 1986). En los mamíferos, la actividad estrogénica causa cornificación y descamación del epitelio vaginal (Montero, 2015).



## 2.Revisión de literatura y planteamiento del problema

### 2.1 Generalidades reproductivas de la cerda

La pubertad en cerdas primerizas se define como el momento en que se produce el primer estro y éste puede ocurrir entre los 6 o 7 meses (Carrera, et al., 2019) o 150 y 220 días de edad. Este intervalo puede ser muy amplio, ya que su presentación está en función de factores nutricionales, hormonales, genéticos, ambientales entre otros.

A partir de la presentación de la pubertad la cerda se considera cíclica, es decir, la cerda es apta para la reproducción y a partir de este momento presentará estro cada 21 días, en un rango de 18 a 24 días (Soede y Kemp, 1997).

### 2.2 Anatomía general

El aparato reproductor de la cerda se encuentra conformado por las siguientes estructuras: Vulva, vagina, cérvix, útero, tuba uterina y ovarios Como se observa en la Imagen 1. A continuación se presentarán las principales características de la morfología de cada estructura antes mencionada (Banks, 1986; Montero, 2015)

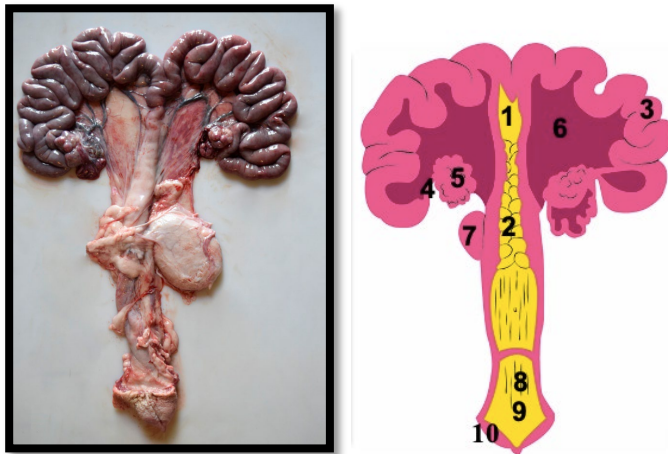


Imagen 1 Fotografía y esquema del aparato reproductor de la cerda (Adaptado de Falceto, 2015).

1. Cuerpo del útero, 2. Cérvix, 3. Cuernos uterinos, 4. Oviducto, 5. Ovario, 6. Mesometrio, 7. Vejiga, 8. Vagina, 9. Vestíbulo vaginal, y 10. Vulva.

Cuadro 2 Características de los órganos reproductores de la cerda

Órgano	Característica
Forma del ovario	Racimo de uvas
Peso de los ovarios (g)	3 a 7
Número de folículos que maduran	10 a 25
Bolsa ovárica	Bien desarrollada, encierra al ovario completamente.
Longitud del oviducto (cm)	15 a 30
Tipo de útero	Bicornual de fusión baja
Longitud de los cuernos (cm)	40 a 65
Longitud de cuerpo	5
Características del cérvix	En forma de tirabuzón
Longitud del cérvix (cm)	10
Longitud de la vagina (cm)	10 a 15
Diámetro de los folículos (mm)	8 a 12
Diámetro del cuerpo lúteo (mm)	10 a 15

Adaptado de (Zarco, 2018)

### 2.2.1 Anatomía e histología vaginal

La vagina es una estructura localizada en el canal pélvico (König and Liebich, 2011), tiene como límite craneal al cérvix y caudal a la vulva (Páramo, 2012), mide de 10 a 15 cm de longitud; está constituida por dos partes: la vagina y el vestíbulo vaginal.

La principal función de la vagina es fungir como el órgano copulador femenino (Pascual, 2002; Contreras, et al., 2015). Los pliegues musculares son los que permiten la distensión de la vagina durante el coito y, sobre todo, durante el parto. Además, a través de la vagina también se excretan las secreciones del cuello uterino, el endometrio y las tubas (Contreras, et al., 2015).

La vagina se compone de tres capas: serosa, muscular y mucosa; esta última capa está compuesta por epitelio escamoso estratificado, el que tiene la capacidad de cambiar de grosor y su tipo celular, dependiendo de la etapa del ciclo estral en que se encuentre la cerda, debido a la alta sensibilidad a las hormonas esteroideas que presentan estas células (Páramo, 2012). Esto permite determinar la etapa del ciclo que cursa la cerda, a través de la observación microscópica de las células del epitelio vaginal, mediante una sencilla citología vaginal que puede realizarse con un hisopo o una pequeña espátula. La porción muscular de la vagina se compone de una capa de músculo liso grueso circular y otra capa de músculo delgado longitudinal; esta última rica en vasos sanguíneos, paquetes nerviosos, grupos de células nerviosas y tejido conectivo laxo y denso (Contreras, et al, 2015).

### 2.2.2 Anatomía e histología ovárica

Los ovarios son las gónadas femeninas encargadas de la producción de los gametos (óvulos), y de hormonas importantes (andrógenos, estrógenos e inhibina) que contribuyen a la regulación del ciclo reproductivo de la cerda (Rangel, 2009) junto con otras hormonas hipotalámicas.

El ovario tiene una disposición par (Pascual, 2002; König y Liebich, 2011), presenta forma elipsoidal, con bordes sumamente irregulares (Trujillo, 2002; Contreras, et al, 2015). A diferencia de los testículos, los ovarios se encuentran dentro de la cavidad abdominal (Pascual, 2002; Trujillo, 2002; Páramo, 2012) en su parte dorsal, cerca de la punta del útero caudalmente a los riñones (Trujillo, 2002; Páramo, 2012). Debido a la elevada formación de folículos y cuerpos lúteos, consecuencia de la gran cantidad de óvulos que la cerda es capaz de producir en un solo ciclo estral, el ovario toma una forma similar a la de una mora o uva (Contreras, et al., 2015).

El ovario está cubierto por un epitelio de superficie, en los primeros estadios de su desarrollo el epitelio es cuboidal, con el tiempo este cambia a escamoso (Banks, 1986; Caballero, 1995). En la mayoría de las especies los ovarios se componen, principalmente, de dos tipos de tejido: el más profundo, la médula es la porción vascular del ovario y está constituida por tejido conjuntivo laxo areolar (Caballero, 1995.), mientras que la corteza que protege y cubre a la médula, se compone a su vez de tres zonas: la primera es propiamente la corteza la porción parenquimatosa del ovario (Caballero, 1995; Trujillo, 2002). En ésta suceden el desarrollo folicular y la formación de los demás elementos

que caracterizan al ovario: el cuerpo hemorrágico, el cuerpo lúteo y el cuerpo albicans (Galina, 2012) además se puede observar tejido conjuntivo laxo (Caballero, 1995) . Por otra parte, bajo el epitelio de revestimiento se observa la túnica albugínea, una capa densa de tejido conectivo que se ve interrumpida cuando se lleva a cabo el crecimiento folicular y la ovulación(Caballero, 1995; Contreras, Trujillo y Hernández, 2015). Por último, se tiene al tejido epitelial, conocido también como epitelio germinal (Caballero, 1995).

### 2.3 Ovogénesis y foliculogénesis

La primera manifestación de las gónadas se aprecia en el embrión en forma de una par de eminencias longitudinales llamadas crestas gonadales (Páramo, 2012). El ovario se origina bilateralmente a partir de la cresta gonadal en la región lumbar, medial al riñón embrionario. Aquí migran desde el endodermo del intestino y el epitelio del saco vitelino las células germinales primordiales que luego formarán las denominadas eminencias ováricas. A partir de ellas se desarrollan los diferentes estadios de la maduración del ovocito (König y Liebich, 2011). En la imagen 2 se observan folículos en la primera etapa de desarrollo folicular, denominados folículos primordiales.

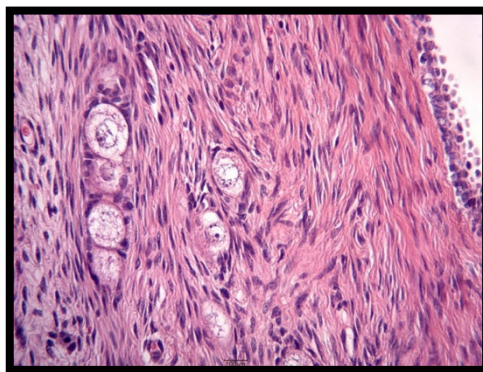


Imagen 2 Microfotografía de folículos primordiales 10x, teñidas con HE. (Calles, 2019)

Durante el desarrollo del feto se producen los oogonios, que se multiplican por división mitótica para una posterior división meiótica, lo que da por resultado varios millones de oocitos hasta que esta división se detiene en la etapa de profase. Después de este proceso, ocurre atrofia de los oocitos al momento del nacimiento y, posteriormente, en la pubertad (Contreras, et al., 2015).

El desarrollo folicular empieza desde la vida fetal, y dos semanas después del nacimiento pueden encontrarse folículos en todas las fases de desarrollo excepto preovulatorios. El crecimiento y diferenciación del ovocito, y la proliferación y diferenciación de las células somáticas que lo rodean ocurre de manera coordinada en las distintas etapas de la foliculogénesis (Lanuza y Barañao, 1999). Los primeros signos morfológicos de crecimiento folicular son la proliferación de las células de la granulosa, las cuales cambian de forma plana a cúbica, así como el crecimiento del ovocito (Valencia, 2018). Durante las primeras fases del desarrollo folicular el ovario es aparentemente independiente a la secreción de gonadotropinas, a pesar de que el eje hipotálamo-hipofisario-gonadal comienza ya a funcionar en la vida fetal. Esto se debe a que el desarrollo preantral del folículo está sometido a control intraovárico exclusivamente (Mota y Lozano, 2015; Williams y de la Sota, 2017).

La iniciación del crecimiento de los folículos primordiales implica tanto la acción hormonal a nivel sistémico como el efecto regulador de factores locales producidos por las células somáticas del folículo (Hirshfield, 1991) y, probablemente, de la propios oocitos en crecimiento (Picton, Briggs y Gosden,

1998). Las células foliculares continúan proliferando para formar varias capas de células de la granulosa, así como las células de la teca que las rodean, transformando los folículos primarios en secundarios (Sacristán, 1998). La transformación de folículo primario a secundario es independiente de las gonadotropinas hipofisarias (Manjarin, 2013). El folículo entra en la etapa secundaria con 3 a 20 capas de células de la granulosa y un diámetro de 0.14 a 0.40 mm. El crecimiento más allá de los 0.4 mm se asocia con la formación del antro o folículo terciario. Los folículos antrales tienen una amplia variación en su diámetro (0.4-1.5 mm), así como en el número de capas de células de la granulosa 10-30 (Knox, 2005). El fluido folicular deriva tanto de la sangre, como de sustancias sintetizadas por las células de la granulosa y teca. Durante la fase antral, las células de la granulosa siguen proliferando y empiezan a desarrollar receptores para la hormona folículo estimulante (FSH). Al mismo tiempo, las células de la teca aparecen completamente diferenciadas formando dos capas concéntricas: la teca interna, con receptores para LH y la teca externa (Manjarin, 2013).

Durante la maduración folicular, las células de la teca y la granulosa sintetizan y secretan grandes cantidades de esteroides, que junto con las hormonas hipofisarias FSH y LH, permiten a los folículos crecer y alcanzar su desarrollo final (Cárdenas y Pope, 2002). El mecanismo implicado consiste en que, durante el desarrollo folicular, la LH se une a receptores de membrana LH-específicos localizados en las células de la teca interna del folículo en desarrollo, activando una cascada de eventos intracelulares resultantes en última instancia en la conversión de colesterol a testosterona. La testosterona

se difunde fuera de las células de la teca interna y entra en las células de la granulosa, que tienen receptores para FSH. Cuando la FSH se une a su receptor, provoca la conversión de testosterona a estradiol mediante la enzima aromatasa. Al mismo tiempo, el estradiol, junto con el factor de crecimiento insulínico 1 (IGF-1), complementa el efecto de la FSH y LH para aumentar aún más la actividad de la aromatasa en los folículos (Manjarin, 2013).

Una vez que el folículo alcanza un tamaño crítico, las células de la granulosa unidas a la lámina basal se distancian del complejo oocito-cumulus, y establecen un segundo microambiente dentro del folículo (Richards, 2001). Esta separación requiere la regulación de las células de la granulosa por parte de factores y hormonas distintas a las del complejo oocito-cumulus. Localmente, la FSH induce cambios específicos en la expresión génica de las células de la granulosa, aumenta su proliferación, e induce la formación del antro que separa el componente oocito-cumulus de la capa lateral de células endocrinas. En última instancia, las células de la granulosa expresan también receptores para la LH, así como la enzima P450 aromatasa, activina e inhibina, mientras que las células de la teca se diferencian para producir andrógenos a través de la ruta biosintética P450 $17\alpha$ . Todos estos cambios aumentan aún más la esteroidogénesis en el ovario, inhiben la secreción hipofisaria de FSH, de tal manera, que los folículos de menor diámetro, cuyo desarrollo depende de la FSH, sufren atresia, y conduce a la retroalimentación positiva del estradiol en el hipotálamo para desencadenar el pico ovulatorio de LH, estos cambios se reflejan gráficamente en la imagen 3. (Manjarin, 2013)



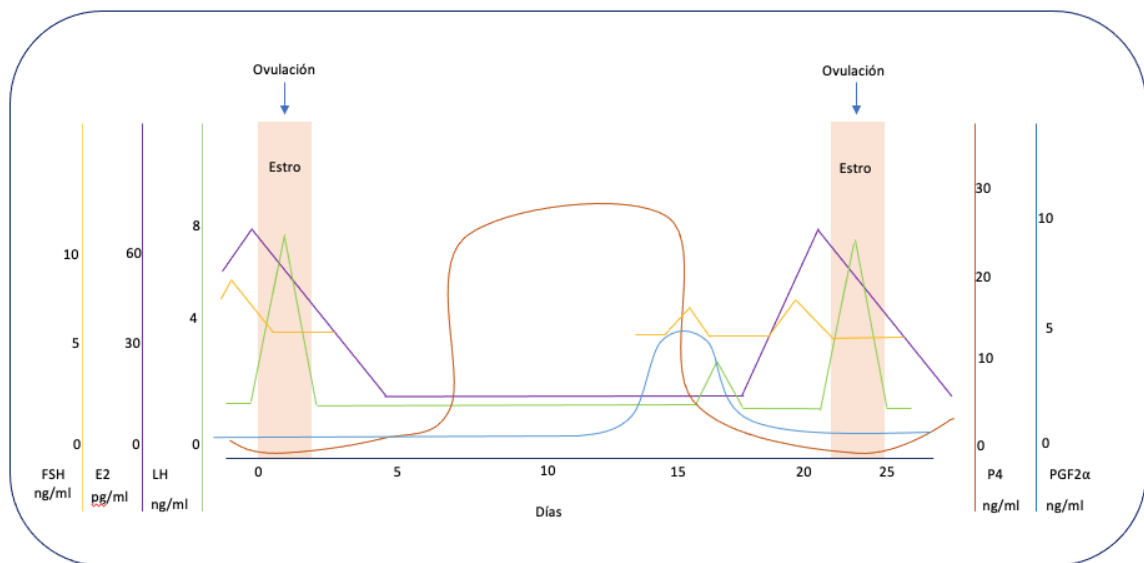


Imagen 3 Concentraciones hormonales en sangre durante el ciclo estral de la cerda (adaptado de Laing et al., 1991).

#### 2.4 Ciclo reproductivo de la cerda

En condiciones normales las cerdas alcanzan la pubertad entre los 6 y los 9 meses de edad con un peso vivo que oscila entre los 70 y los 90 kg (Carrera, et al , 2019). La duración del ciclo sexual o estral (intervalo de tiempo entre un celo y otro) es en la cerda de 21 días (18-24), en caso de haber fecundación este ciclo se alarga a 150-160 días aproximadamente. Esto corresponde a: 115 de gestación, más 30-35 de lactancia, por último 5-10 días, más que corresponden al destete hasta la nueva manifestación de celo. (Soede y Kemp, 1997; Mota y Lozano, 2015).

Los procesos que tienen lugar en los ovarios, mencionados en la sección anterior, son el punto de partida para que se produzca el estro en el ciclo sexual .(Konig, I., 1978). Sin embargo, existe una gran variación de la duración del estro. De aquí viene la importancia de conocer el ciclo estral.

El ciclo se inicia con el estro como se muestra en la imagen 4, que se caracteriza por la receptividad sexual y que dura en promedio de 12 y 60 horas (con variaciones de 24 a 96 horas)(Jiménez, 2011). La ovulación ocurre durante el 70% de la duración del estro (Konig, I., 1978; Soede y Kemp, 1997; Anuvongnukroh *et al.*, 2004) o entre 36 y 44 horas de iniciado el estro, o sea hacia las 2/3 del celo y su duración es de unas 3-4 horas produciendo entre 10 a 22 óvulos. (Valencia, 2018).

Después de la ovulación, viene el proceso de formación de cuerpo hemorrágico del folículo que corresponde a la etapa del metaestro. Posteriormente el proceso de luteinización (imagen 4) que sucede a la par de un proceso de angiogénesis muy activa apoyada por varios factores como los IGFs y factor de crecimiento endotelial vascular VEGF (Ptak, *et al.*, 2003) El cuerpo lúteo alcanza su funcionalidad máxima hacia el día 7 del ciclo estral que sintetiza progesterona (P4) cuyos niveles se correlacionan con el número de cuerpos lúteos.

La formación del cuerpo lúteo se da por el pico de LH que es independiente de la secreción tónica de LH. Es decir que el cuerpo lúteo no necesita de soporte gonadotrópico durante los primeros 10 días. En la segunda mitad de la fase lútea, los cuerpos lúteos dependen de LH la cual tiene un patrón de pulsatilidad de baja frecuencia y mayor amplitud (Quesnel *et al.*, 2010; Jiménez, 2011).

La luteólisis sucede hacia los 15 días del ciclo, pero solo hasta el día 12-13 el cuerpo lúteo es sensible a las prostaglandinas. Antes del día 12, debido a un

escaso número de receptores para la prostaglandinas, en el cuerpo lúteo es resistente a la luteólisis y por esta razón no son muy utilizadas en sincronización del ciclo estral en porcinos (Jiménez, 2011).

En el proestro la creciente producción de estrógeno folicular inicia la preparación del aparato reproductivo para el apareamiento (Zarco, 2018). Dura de 2 a 3 días, sin embargo su duración se puede reducir hasta un día en cerdas primerizas (Cintra *et al.*, 2006). Esta fase comienza con la regresión del cuerpo lúteo del ciclo anterior, por lo que las concentraciones de progesterona disminuyen. Aquí aumenta la concentración de estradiol e inhibina secretados por los folículos que comenzaron su desarrollo durante el diestro (Zarco, 2018).

Se lleva a cabo el proceso de crecimiento y maduración folicular (Pascual, 2002; Gamba, *et al.*, 2015; Williams y de la Sota, 2017), existen folículos en continuo crecimiento y atresia dentro de otros (imagen 4), sin embargo, es más grande el número de folículos que involucionan que el de los crecen destinados a la ovulación (Pascual, 2002; Mota and Lozano, 2015). En esta fase, los folículos en desarrollo comienzan a producir cantidades crecientes de estrógenos (Pascual, 2002; Mota y Lozano, 2015; Williams y de la Sota, 2017; Zarco, 2018).

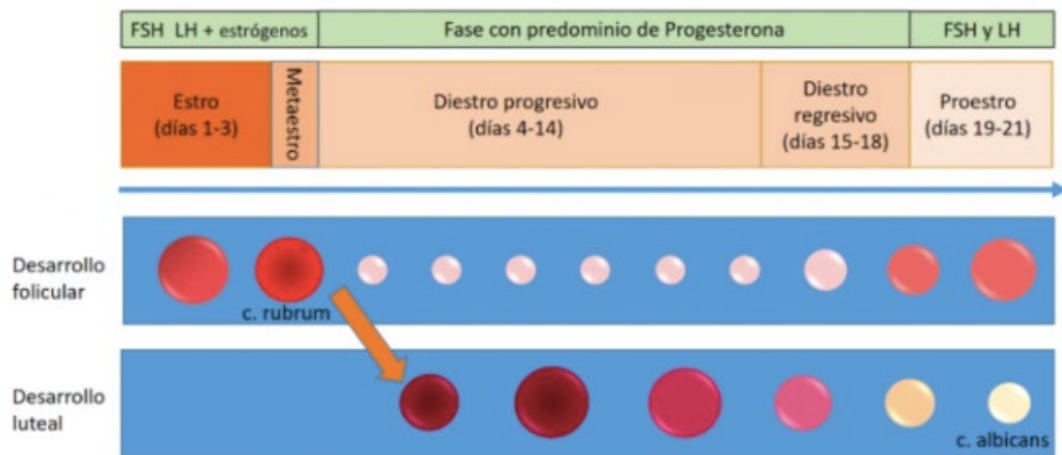


Imagen 4 Esquema ciclo reproductivo y dinámica folicular y lútea de la cerda (adaptado de Hafez, 1987; Mc Donald, 1991)

## 2.5 Dinámica folicular

El proceso de crecimiento continuo y la regresión de folículos antrales, que termina con el desarrollo de folículos preovulatorios, se conoce con el nombre de dinámica folicular. Se destacan tres procesos importantes que son: reclutamiento, selección y dominancia como se observa en la imagen 5.

Reclutamiento se refiere al proceso por el que, bajo la responsabilidad de la FSH, un conjunto de folículos antrales tempranos, comienzan a crecer en un medio con suficiente soporte gonadotrófico que les permita progresar a la ovulación.

Selección, es el proceso por el cual un folículo evita la atresia con la posibilidad de llegar a la ovulación.

La dominancia folicular sucede cuando el folículo ovárico alcanza un tamaño determinado, es señal que escapó a la atresia y de que secreta productos (inhibina y estrógenos), capaces de inhibir el reclutamiento de una nueva onda y crecimiento folicular. Cuando el folículo dominante encuentra el ambiente

hormonal adecuado: bajos niveles de P4 y un pico de LH, es capaz de ovular. En caso contrario, cuando el folículo dominante llega cuando existen altos niveles de P4, no permite que el E2 sintetizado por el mismo provoque un pico de LH, por lo tanto, no ovulará y este folículo dominante pierde su dominancia. De tal manera que permite el reclutamiento y la emergencia de una nueva cohorte de folículos del cual saldrá el próximo folículo dominante (Manjarrés, 2015).

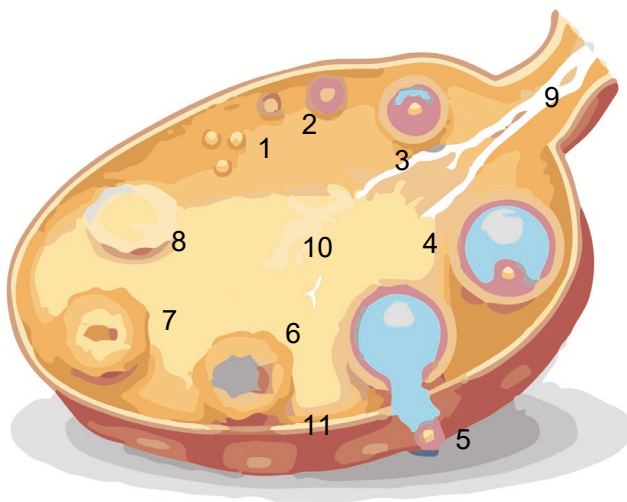


Imagen 5 Estructuras ováricas. (adaptado de Andrés Santos, 2013).

1. Folículo primordial 2.Folículo primario 3.Folículo secundario 4.Folículo terciario 5.Óvulo liberado 6.Cuerpo hemorrágico 7. Cuerpo lúteo 8. Cuerpo albicans 9.Vasos sanguíneos 10.Médula 11.Corteza.

## 2.6 Regulación hormonal

### 2.6.1 GnRH

En la cerda cíclica, los centros tónico y pulsátil están regulados por los niveles de progesterona y de estradiol en sangre. La progesterona ejerce una

retroalimentación negativa en ambos centros, aunque la mayor parte de su efecto se lleva a cabo sobre el centro tónico. En contraste, el centro pulsátil responde a un aumento en los niveles de estradiol con una retroalimentación positiva. Durante la fase lútea (con altos niveles de progesterona en sangre, por parte del cuerpo lúteo ) la secreción de GnRH por parte del centro tónico ocurre en episodios cada 4-8 h (Senger, 2012). Esta secreción basal, aunque permite un cierto crecimiento folicular, no permite un desarrollo folicular suficiente para la producción de niveles preovulatorios de estradiol y la generación de un pico de LH. En consecuencia, las cerdas no ovulan bajo la influencia de la progesterona, tanto durante la fase lútea del ciclo estral como durante la gestación.

Durante la fase folicular temprana, la retroalimentación negativa ejercida por la progesterona en el hipotálamo se elimina, y la GnRH es liberada por el centro tónico con una mayor frecuencia que durante la fase lútea (1.5-2 h). Esto estimula el aumento de la liberación de FSH y LH, que a su vez aumenta la secreción de estradiol por parte de los folículos. Durante la fase folicular tardía, y una vez que el estradiol alcanza un cierto nivel en sangre, el centro pulsátil es estimulado positivamente, liberando grandes cantidades de GnRH que causan la liberación de la ola preovulatoria de LH (Manjarin, 2013).

### 2.6.2 LH y FSH

Las gonadotropinas son un conjunto de hormonas reproductoras secretadas por la adenohipófisis (hipófisis), gracias a la estimulación que realiza la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) sobre dicho órgano. Dichas

hormonas tienen la función de actuar sobre las gónadas, tanto femeninas como masculinas como se observa en la imagen 6.

Entre las hormonas que constituyen este grupo, se encuentran: la hormona luteinizante (LH), la hormona folículo estimulante (FSH), la gonadotrófica coriónica humana (hCG) y la gonadotrófica coriónica equina (eCG).

Las hormonas que actúan sobre el desarrollo folicular son FSH y la hormona LH. Estas hormonas se conocen con el nombre de hormonas gonadotropinas hipofisarias, ya que son producidas y liberadas hacia la sangre por la hipófisis (Trujillo, 2004).

La hormona estimulante del folículo es secretada por la glándula pituitaria anterior, una glándula pequeña en la base del cerebro. FSH inicia el crecimiento y desarrollo de los folículos en el ovario, cada folículo que desarrolla contiene un óvulo maduro. Todos estos folículos terciarios secretan estrógeno, que es responsable de los signos típicos del celo o reflejo de parada (May, 2014)

La hormona luteinizante promueve la ovulación y también es secretada por la adenohipófisis. Una vez que se libera un óvulo las células restantes dentro del folículo roto continúan desarrollándose y forman el cuerpo lúteo. (May, 2014)

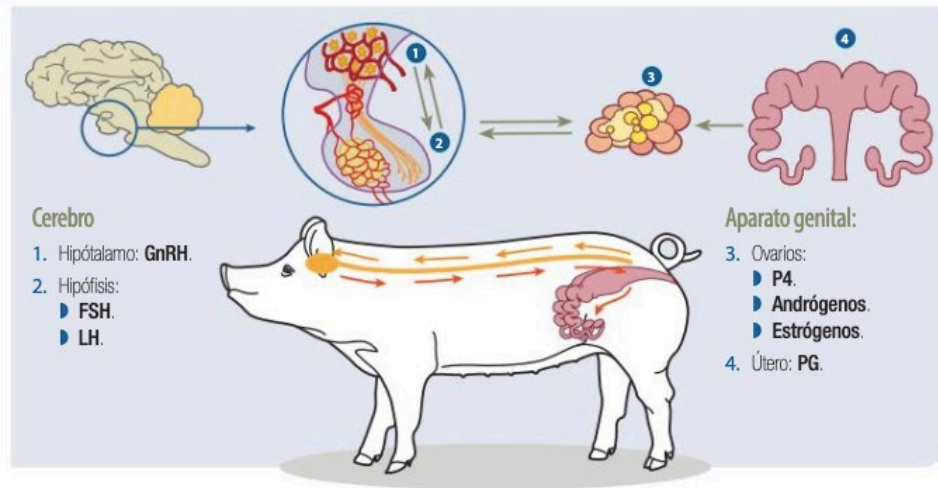


Imagen 6 Hormonas reproductivas (falceto, 2015)

En los cerdos, el crecimiento de los folículos ováricos provoca un aumento progresivo de las concentraciones plasmáticas de estradiol que provoca una inhibición a corto plazo de la secreción de LH durante la fase folicular tardía del ciclo estral (Prunier *et al.*, 1987; Clarke, 1989). Aparentemente, estradiol puede inhibir o reducir en gran medida la liberación de GnRH por un período de aproximadamente 54 hasta 60 h , y a continuación, provocar una liberación masiva de GnRH, induciendo una ola preovulatoria de LH proporcional a la cantidad de la GnRH secretada. La importancia fisiológica de esta inhibición temporal podría ser el darles tiempo a las células hipofisarias para preparar la maquinaria celular para el subsiguiente evento de retroalimentación positiva. (Manjarin, 2013)

En porcino, cambios en las concentración de esteroides en el líquido folicular indican dos olas de crecimiento folicular y aumento de la esteroidogénesis (Guthrie and Cooper, 1996). En el cerdo, el receptor de LH aparece en una etapa relativamente inmadura del desarrollo folicular (Liu *et al.*, 2000).



La primera ola de crecimiento folicular consiste en la reposición de la población de folículos entre los días 2 y 8 del ciclo estral, seguido por un aumento en la incidencia de atresia entre los folículos de pequeño y mediano diámetro entre los días 5 y 7. La segunda ola de crecimiento folicular consiste en la selección y el crecimiento de los folículos preovulatorios, acompañado de la atresia del resto de los folículos durante la fase folicular del ciclo (días 15-21)(Manjarin, 2013). El patrón de crecimiento folicular durante las etapas media y final de la fase luteal en cerdos (días 7-15) se caracteriza por el continuo crecimiento y atresia de los folículos ováricos(Guthrie and Cooper, 1996) representado en la imagen 7. En las cerdas, cambios en el número y distribución de tamaño de los folículos durante el ciclo estral están también parcialmente asociados con cambios en las concentraciones de FSH plasmática (Guthrie *et al.*, 1995). La secreción de FSH queda suprimida hasta el pico preovulatorio de LH debido a una retroalimentación negativa ejercida por la inhibina, sintetizada por el mismo folículo preovulatorio. Esto favorece la atresia de las poblaciones foliculares pequeñas y medianas. Después de la ovulación, al no existir inhibina, la FSH vuelve a aumentar transitoriamente entre los días 2 y 3 y favorece el reclutamiento de nuevos folículos. (Guthrie *et al.*, 1995; Manjarin, 2013).

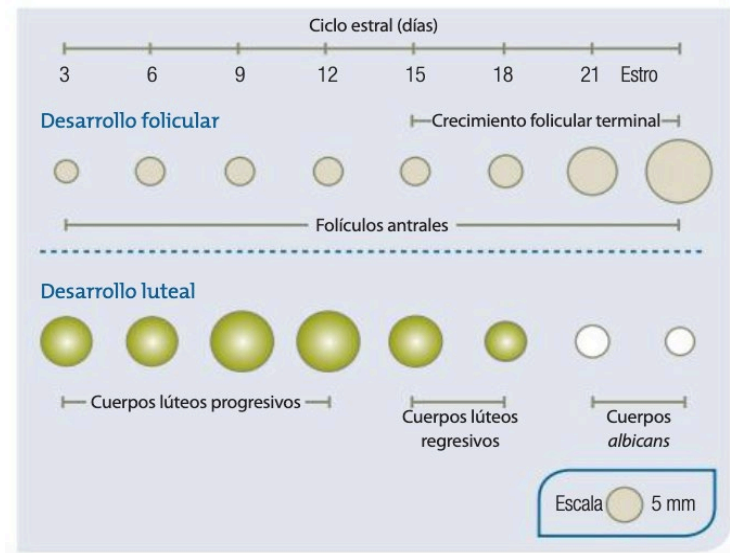


Imagen 7 Dinámica folicular y lútea. (falceto, 2015)

### 2.6.3 eCG y hCG

La gonadotropina coriónica equina es producida en el corion de la yegua gestante, tiene funciones de promover la liberación de LH favoreciendo la formación de los cuerpos lúteos accesorios entre los días 36 y 60 de gestación en la yegua. Es una hormona glicoproteica compuesta por dos subunidades la alfa y beta. (Martí Vidal, 2020) Debido a que estas subunidades son muy similares a las de otras hormonas como la FSH en especies distintas la yegua, eCG puede estimular ser utilizada para impulsar el crecimiento inicial y la maduración folicular (Am-in, et al, 2019). Gracias a distintos mecanismos fisiológicos puede acabar induciendo la ovulación un ejemplo de estos son: la inducción del receptor LH (Yang *et al.*, 2008), la activación de las vías de esterol (Wang *et al.*, 2009) y la estimulación del receptor del factor de crecimiento epidérmico (Chen *et al.*, 2008).

La eCG se utiliza, sola o combinada con hCG u otras hormonas como son la GnRH o progestágenos (Solorio *et al.*, 2002). Esta molécula se utiliza tanto en cerdas nulíparas como multíparas para la inducción y sincronización del estro

(Martí Vidal, 2020). En cerdas nulíparas cíclicas se llega a conseguir la presentación de estro del 95% y una ovulación del 93.3%, reduciéndose un 10% la salida en celo de nulíparas acíclicas (Stančić *et al.*, 2012). Estos protocolos de sincronización obtienen buenos resultados, en especial los protocolos que combinan la eCG y hCG o sus análogos teniendo como respuesta un gran porcentaje de ovulaciones antes de los 7 días post-inyección (Martí Vidal, 2020).

La gonadotropina coriónica humana se forma en los citoblastos de las vellosidades coriónicas de la placenta humana, de cuya orina se extrae;(Velázquez, 2014) al igual que la eCG está constituida por dos subunidades la  $\alpha$  (alfa) y la  $\beta$  (beta), estas subunidades son muy similares a las de otras hormonas como son la FSH, LH o TSH. La subunidad  $\alpha$  es equivalente a las subunidades de la LH y FSH, además la subunidad  $\beta$  comparte un parecido con la LH entre 80-85,(Velázquez, 2014; Martí Vidal, 2020) esta pertenece a la familia de hormonas glicoproteicas (MSD, 2020).

Debido a la similitud estructural entre la hCG y la LH, ambas se unen al mismo receptor, aunque las acciones de la hCG son más potentes, ya que tiene mayor afinidad por el receptor y mayor vida media en la circulación sanguínea (Rao y Lei, 2007).

En las gónadas la hCG actúa estimulando la biosíntesis de esteroides sexuales, debido a su actuación directa sobre los receptores de la LH ováricos. La estimulación producida sobre los ovarios desencadena un incremento de la producción de progesterona y estradiol por parte de la granulosa, teca y estroma (Soede *et al.*, 2001).

El uso de hCG para la inducción de la ovulación ha sido usado con éxito durante años en la inducción de la ovulación. (Knox, 2015) La hCG es una hormona que en la práctica no es muy utilizada en los protocolos de sincronización e inducción a la ovulación por sí sola. Sin embargo, hay medicamentos que contienen esta hormona como principio activo combinada con la eCG como es el caso de Veterin Anestro ®; la cual se expondrá a continuación (Martí Vidal, 2020).

## 2.7 Manipulación del ciclo estral

Durante las últimas décadas el hombre ha desarrollado diversos métodos para manipular la actividad ovárica de los animales con diversos propósitos: inducir la actividad reproductiva en animales que se encuentran en anestro, ya sea prepuberal, estacional, posparto o lactacional; sincronizar el estro y la ovulación de grupos de animales con el objeto de facilitar el manejo reproductivo, la inseminación artificial o la aplicación de otras biotecnologías; programar el estro o la ovulación de animales individuales; alterar el desarrollo folicular con el objeto de mejorar la fertilidad, permitir la inseminación a tiempo fijo o aumentar los índices de ovulación; corregir patologías asociadas a alteraciones en la función ovárica (Zarco, 2018).

### 2.7.1 Métodos físicos

Limitar el tiempo desde el inicio de la estimulación (efecto verraco) de las cerdas de reemplazo hasta presentar el primer celo registrado (30 días a partir de los 170 días de edad) permite a los productores identificar las primerizas maduras más tempranas y, por lo tanto, aprovechar el vínculo entre la madurez

sexual temprana y la mayor vida productiva de las cerdas (Patterson, et al, 2010)

En segundo lugar, dados los sistemas de alimentación *ad libitum* típicos de la industria porcina, una edad límite relativamente agresiva en la que se completa la selección de reemplazos (200 a 210 d) reduce el riesgo de sobrepeso (> 170 kg) en las cerdas (Calderón Díaz *et al.*, 2015) y de sacrificio temprano debido a problemas de locomoción (Bortolozzo *et al.*, 2009)

No obstante, debido a que no se siguen protocolos estandarizados en el manejo de los reemplazos en los sistemas de producción porcina, es muy común el uso de hormonas exógenas con la finalidad de inducir la pubertad en las cerdas, sincronizar los celos y minimizar la eliminación de las cerdas de reemplazo, aspectos que no han sido evaluados (Patterson *et al.*, 2016).

### 2.7.2 Métodos químicos

Con la inducción y sincronización del celo se busca optimizar el recurso, buscando una respuesta homogénea en grupos de animales. A su vez la utilización de hormonas sintéticas permite mejorar los parámetros reproductivos, como también, se puede realizar la inseminación con un alto porcentaje de efectividad, lo que permitirá obtener nacimientos simultáneos que favorezca la planificación adecuada de la explotación porcina (Zabala, 2005). La inducción de la actividad reproductiva en animales que se encuentran en anestro tiene como objetivo lograr que la ovulación y el estro fértil se presenten antes de lo que ocurriría en forma natural, para reducir la

edad a la primera gestación, el intervalo entre el parto y la siguiente concepción, o los intervalos entre partos.

De manera alternativa, puede utilizarse para obtener gestaciones y partos en épocas del año en las que no ocurrirían en forma natural, o para corregir la inactividad ovárica de animales que deberían estar ciclando, lo cual facilita su manejo reproductivo y la inseminación artificial. (Falceto *et al.*, 2014; Zarco, 2018). Ya que si bien es motivo de controversias, una condición que puede retrasar la aparición de la pubertad y que es importante en algunas zonas de México, es la temperatura ambiente elevada, se reporta que temperaturas arriba de 25 grados centígrados pueden causar dicho efecto(Larsson,et al, 1988).

Los animales que se encuentran en anestro fisiológico, independientemente de su tipo (prepuberal, estacional, posparto o lactacional), tienen una excesiva sensibilidad hipotalámica a la retroalimentación negativa ejercida por los estrógenos sobre la secreción de GnRH y de las gonadotropinas, lo que impide que los folículos ováricos completen su desarrollo, por lo que son incapaces de producir suficiente estradiol para inducir un pico preovulatorio de LH. (Zarco, 2018)

La mayoría de los métodos utilizados para inducir la ovulación en animales que se encuentran en anestro se basan en el uso de hormonas que reducen la sensibilidad a la retroalimentación negativa de los estrógenos o estimulan el desarrollo folicular hasta el punto en que el animal produce suficientes estrógenos para generar una elevación preovulatoria de LH. Debemos

considerar, sin embargo, que el estado de anestro fisiológico se debe a señales que le indican al animal la pertinencia de mantenerse en anestro. La falta de desarrollo corporal, por ejemplo, le señala a la hembra que debe mantenerse en anestro prepuberal; el amamantamiento frecuente le indica a una cerda o a una vaca productora de carne que debe hacerse cargo de sus crías antes de volver a reproducirse (Manjarín, 2013; Falceto *et al.*, 2014; Zarco, 2018).

Al inducir la actividad reproductiva en forma artificial debemos asegurarnos de que el animal cuente con los elementos que requiere durante la gestación para que ésta no se convierta en un problema. Al inducir la actividad ovárica en animales prepúberes por ejemplo, hay que cerciorarse de que tengan un porcentaje mínimo del peso corporal adulto, además de una edad adecuada para la raza y proporcionarles una alimentación suficiente para terminar de crecer, no estar sometidos a estrés y condiciones ambientales convenientes (Zarco, 2018).

## 2.8 Intervención hormonal en el manejo reproductivo de las hembras.

Para el uso adecuado de las hormonas reproductivas en la granja es fundamental entender el funcionamiento del eje hipotálamo-hipofisario-ovárico y el ciclo sexual de la cerda. Existen infinidad de factores externos e internos que inciden sobre ellos y que pueden modificar los efectos esperados. Del mismo modo, una mala decisión o la aplicación inadecuada de las diferentes hormonas pueden producir efectos secundarios adversos que provocan el descontrol del ciclo sexual de la cerda, uno de los más importantes ya que tiene grandes repercusiones en la producción es la formación de quistes ováricos.(Trujillo, 2004; Falceto *et al.*, 2014)

Las hormonas exógenas disponibles en el mercado tratan de imitar la acción de las hormonas naturales producidas en el ovario, útero, etc. La efectividad de las hormonas exógenas dependerá de su administración (dosis y duración) y el momento o estado estral de la hembra a la que se administrará el tratamiento.(Trujillo, 2004; Zabala, 2005)

Al utilizar hormonas exógenas muchas veces se pueden obtener los resultados deseados, sin embargo, en otras no.

Las causas de los buenos o malos resultados pueden deberse a un sinnúmero de causas entre ellas:

- No es la hormona adecuada para el objetivo.
- No es la dosis adecuada.
- No es la vía de administración adecuada.
- La combinación de diferentes productos altera los resultados de estos.
- El momento de la administración no es el adecuado.
- El animal se encuentra en un estado fisiológico diferente al recomendado para la administración de la hormona.
- El medio ambiente, altera los resultados esperados (Trujillo, 2004).

### 2.8.1 Progestágenos

La progesterona y sus análogos sintéticos (Altrenogest®) mimetizan los efectos del cuerpo lúteo e inhiben la presentación del estro durante su administración, al terminar su administración el intervalo a la presentación del estro es corto (4



días aproximadamente), después de la supresión aumenta la actividad ovárica, aún más si se administran además gonadotropinas (Trujillo, 2004; Bravo, 2015). Para lograr que la progesterona inhiba la presentación del estro es necesario que se administre diariamente, y en el caso de la cerda existen presentaciones de administración oral lo cual facilita su administración, sin embargo, es necesario tener cuidado con la dosis suministrada ya que a dosis bajas pueden provocar la presencia de quistes. (Trujillo, 2004).

### 2.8.2 Gonadotropinas

El uso de gonadotropinas permite reducir los días no productivos de la cerda en la explotación porcina, ya que concede la oportunidad de que las cerdas que presentan ausencia de celo detectable a los ocho meses de edad y un intervalo destete-salida en celo mayor de 7-10 días salgan en celo antes de eliminarse definitivamente de la explotación. (Falceto *et al.*, 2014)

Combinaciones comerciales de hormonas gonadotrópicas contienen eCG, que puede ser usada sola o en combinación hCG. Una combinación hormonal muy común en porcino es 400 UI de eCG + 200 UI de hCG (MSD, 2020). La inyección de PG600 es eficaz para la inducción del estro en cerdas destetadas, pero cuando se administra a las cerdas prepúberes para la estimulación de la pubertad, hasta el 30% de los animales puede no exhibir comportamiento estral, y aproximadamente el 30 % de aquellos que exhiben signos de estro pueden no ovular regularmente (Manjarin, 2013) (Cuadro 3).

Cuadro 3 Porcentaje de estros en cerdas prepúberes en respuesta a la inyección con PG600

Estro (%)	Ovulación (%)	Ciclando (%)	Fuente
88	100	87	Paterson (1982)
--	97	60	60 Paterson (1982)
70	99	--	Tilton et al. (1995)
78	--	67	Kirkwood (1999)

PG600: combinación de 400 UI eCG + 200 IU hCG (Manjarin, 2013)

Según (López *et al.*, 2002) la eCG, sola o combinada con la hCG, ha sido utilizada para inducir y sincronizar el estro. Tanto en el caso de aplicación única de eCG como en la combinación de ésta con hCG en forma simultánea (las dos se aplican al mismo tiempo) o diferida (aplicación de eCG y 56 a 96 h después la hCG), se ha logrado acortar el intervalo destete a estro y aumentar el porcentaje de cerdas en estro antes del día siete posdestete con fertilidades similares a las de estros no inducidos.(Christenson and Teague, 1975; Hurtgen and Leman, 1979)

La evidencia disponible indica que en el caso de administración única de eCG o su combinación diferida con hCG, las dosis de 1 200 y 500 UI, respectivamente, producen mejores resultados en cuanto a inducción y sincronización del estro que dosis menores, aumentando a su vez el número de ovulaciones y tamaño de la camada.<sup>8,12</sup> En el caso de aplicación simultánea solamente se han evaluado dosis bajas (400 y 200 UI de eCG y hCG, respectivamente) (Manjarín *et al.*, 2009).

## 2.9 Veterin anestro®

Veterin anestro® es una gonadotropina sintética constituida a partir de la unión de otras gonadotropinas como son la eCG y la hCG. En el mercado esta molécula se encuentra bajo el nombre de PG600® o Veterin anestro® monodosis liofilizada para solución inyectable. Las sustancias activas que la componen son eCG y hCG, una dosis está compuesta por 400 UI eCG más 200 UI hCG se puede encontrar como una solución reconstituida.(Martí Vidal, 2020)

Veterin anestro® actuará estimulando el desarrollo de los folículos como la hormona FSH, la inducción a la ovulación como la LH y finalmente la manifestación del estro.

La dosis de este producto depende de si es cerda joven o nulípara o multípara. En multíparas se recomienda dosis más pequeñas de 0,5 × (media dosis) (Bates *et al.*, 2000; Breen, et al, 2006). Además, las dosis más altas 1,5 × (una dosis y media) incrementan la proliferación de quistes ováricos y una disminución de la tasa de ovulación (Fitko *et al.*, 1996).

Por el contrario, en nulíparas y primíparas se recomiendan dosis de 1,0 × (400 UI de eCG+200 UI de hCG)favoreciendo la ovulación sin que se produzca un incremento notable de la aparición de quistes ováricos (Vargas *et al.*, 2006; Williams y de la Sota, 2017).

En cerdas nulíparas se ha combinado Veterin anestro® con altrenogest vía oral (15 mg/d) durante 14 días y tras 24 h desde la última ración se produce la inyección de Veterin anestro® IM, dicha combinación ha dado buenos

resultados reproductivos, en especial, garantiza la salida en estro antes de 7 días tras la inyección (Estienne y Crawford, 2015).

En virtud de lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de eCG y hCG aplicadas de manera simultánea, sobre la función ovárica de cerdas nulíparas.

### 3. Objetivos

#### Objetivo general

Evaluar los cambios histológicos en los ovarios de cerdas nulíparas con y sin tratamiento de eCG y hCG durante la etapa de proestro y estro.

#### Objetivos específicos

Evaluar los cambios morfométricos a través de la histología ovárica de cerdas nulíparas durante las etapas de proestro y estro.

Determinar si existe diferencia en los cambios morfométricos histológicos en las etapas de proestro y estro de cerdas tratadas con 400 UI eCG más 200 UI de hCG.

### 4. Hipótesis

El uso de gonadotropinas exógenas (eCG y hCG) el día 17 de ciclo estral, modificarán la morfometría ovárica de cerdas nulíparas en la fase folicular.

### 5. Material y métodos

El presente trabajo se realizó en las instalaciones del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Porcina (CEIEPP) ubicado en el Km. 2 de la carretera Jilotepec-Corrales en el Municipio de Jilotepec, Estado de México, el cual se encuentra en los 99° 31' 45" de longitud oeste del meridiano

de Greenwich, su latitud norte es de 19° 57' 13", y a una altura de 2,250 metros sobre el nivel del mar.

Se utilizaron 12 cerdas comerciales (híbridas) prepúberes, con un peso promedio de 70 Kg y una edad aproximada de 120 días, de línea terminal. Se mantuvieron en corrales con un máximo de cinco animales, con piso de cemento y bebedero de chupón, según las indicaciones de la Norma Oficial Mexicana: Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio, (NOM-062-ZOO-1999). Todas las cerdas se sometieron a exposición directa a un verraco maduro durante 15 minutos diarios por la mañana y por la tarde, para facilitar la detección del estro.

Número de protocolo autorizado por CICUA: 598

El estro se definió como la expresión de un reflejo rígido de pie en presencia del macho. Posteriormente, se programaron cuatro grupos, dos grupos recibieron una aplicación de 400 UI eCG más 200 UI de hCG (4 ml de Veterin Anestro®) en las fases de proestro y estro y los otros dos grupos se utilizaron como control (no recibieron tratamiento).

Clasificación de grupos:

- Grupo 1: Hembras en el segundo proestro con citología previa: Grupo proestro
- Grupo 2: Hembras en un segundo ciclo sometidas a una dosis comercial para inducir la sincronización recibiendo una dosis comercial de Veterin anestro® I.M (400 UI de eCG y 200 UI de hCG), en proestro
- Grupo 3: Hembras en el segundo estro con citología previa: Grupo estro.

- Grupo 4: Hembras en un segundo ciclo sometidas a una dosis comercial para inducir la sincronización recibiendo una dosis comercial de Veterin anestro® I.M (400 UI de eCG y 200 UI de hCG), en estro (Imagen 8).

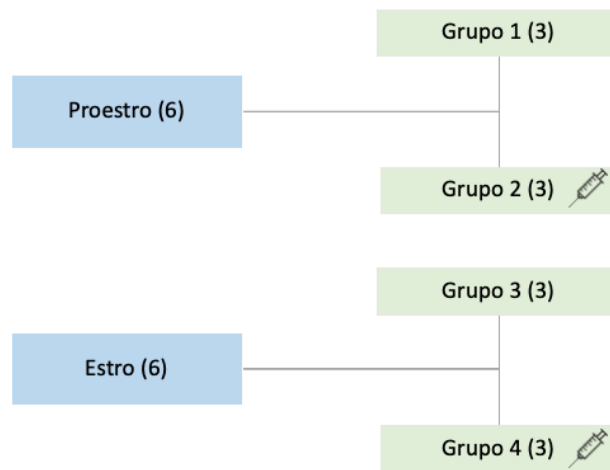
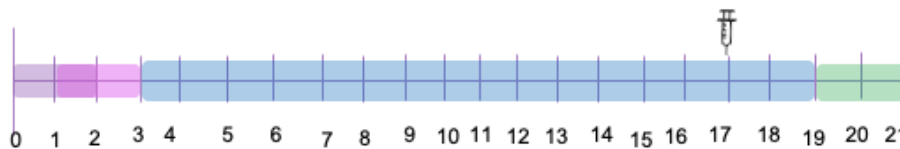


Imagen 8 División de las cerdas por grupo.

Se aplicó el tratamiento durante la fase folicular, el día 17 del ciclo anterior a las cerdas de los grupos 2 y 4 (Imagen 9).



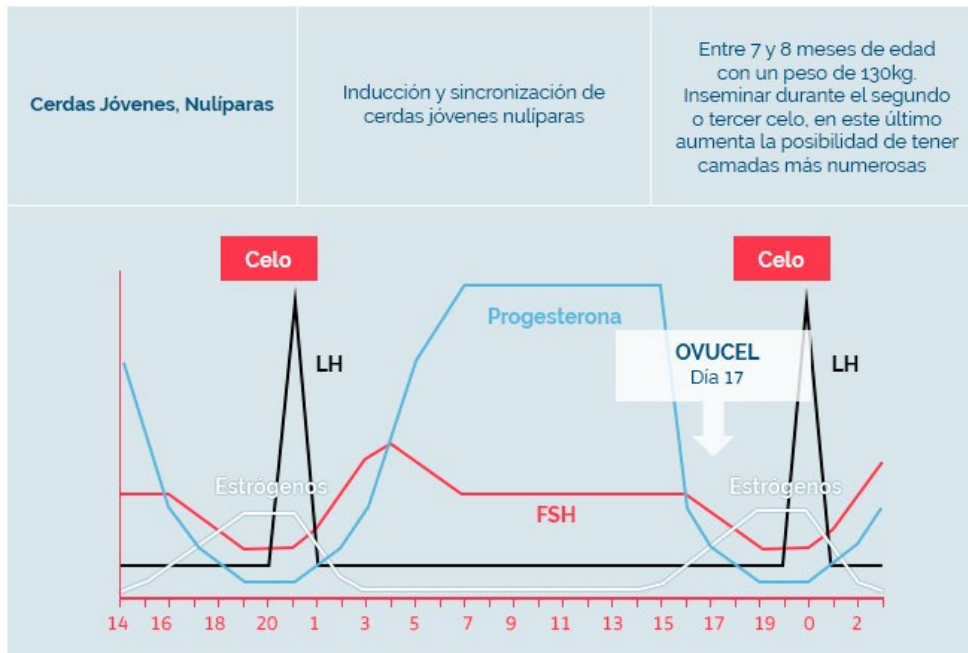


Imagen 9 Adaptación uso de hormonas exógenas (Carrera, et al, 2019)

### Análisis citológico

Para determinar la etapa del ciclo estral en la que se encuentran las cerdas, se procedió a dar seguimiento a partir del día en que presentaron la pubertad como se observa en la imagen 10. Con un peso promedio de 95 kg y una edad de 6 meses de edad. Parámetros establecidos por la Falceto (2015). Para confirmarlo, se realizaron dos citologías vaginales exfoliativas por cerda, durante dos días anteriores a la fecha esperada, bajo la técnica establecida por Fernandez (2010). Estos frotis se fijaron en alcohol al 96% para realizar la tinción de Papanicolaou y al aire para realizar tinción de hematoxilina-eosina (HE).



Imagen 10 Flujograma de actividades. (Calles M., 2021).

### **Análisis histológico**

Una vez que las hembras fueron caracterizadas por cada etapa del ciclo estral, se sometieron a un proceso de muerte humanitaria, por el método de electro insensibilización y desangrado por corte de vena cava anterior según la norma: Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres (NOM-033-ZOO-2014),(DOF - *Diario Oficial de la Federación*, 2014). Se colectaron los ovarios, estos fueron fijados en paraformaldehído al 4%, después fueron embebidos en parafina y cortados en secciones de 5 a 10 micras. Para estudiar la morfología, las secciones de tejido fueron teñidos mediante la tinción de HE con ayuda de un microscopio óptico Axioskop 2 plus adaptado a la cámara Axiocam 506 color y manipuladas por el programa Scope Photo de acuerdo con De Buen de Argüello, (2001) Para ver detalles del protocolo **Ver Anexo 1.**



## Medición de estructuras

De cada grupo de estudios se evaluaron 10 laminillas con 6 campos de observación cada una (40X) Se identificaron estructuras y las variables evaluadas fueron: estructuras foliculares (folículo primordial, primario, secundario y terciario) y estructuras no foliculares (cuerpo lúteo y cicatriz). A todas estructuras se midió: radio, diámetro y área (mm) y cantidad. Tomando en cuenta la etapa del ciclo estral en que se encontraron: Proestro (Grupo 1 y 2) y Estro (Grupos 3 y 4).

Para las mediciones, se utilizó una regla para estandarizar una medida con el programa imageJ® 1.52<sup>a</sup> (Wayne Rasband, 2012).

Cuadro 4 Clasificación de las estructuras

Clasificación	Criterios
Folículo primordial	Cubiertos por una capa de células mesodérmicas simples o aplanadas (células foliculares) , las cuales rodean al ovocito primario. Clasificado por su tamaño como muy pequeño.
Folículo primario	Formación de más capas de células foliculares, alrededor de la ovogonia. Clasificado por su tamaño como muy pequeño.
Folículo secundario	Aumento en la población de células foliculares y el completo desarrollo de la zona pelúcida, Las células del estroma se diferencian en dos capas, la teca interna y la teca externa. Clasificado por su tamaño

	como pequeño a mediano.
Folículo terciario	El antro folicular se encuentra aumentado de tamaño debido a la acumulación de líquido en su interior. Clasificado por su tamaño como mediano a grande.
Cuerpo Lúteo	Las células que correspondían a las células de la granulosa y la teca interna se encuentran luteinizadas.
Cicatriz	El folículo se encuentra en proceso de regresión

### **Análisis estadístico**

La diferencia entre grupos, del número de estructuras foliculares y no foliculares fue analizada utilizando el Sistema de Análisis Estadístico SAS (PROC GLIMMIX; SAS 9.2, SAS Institute Inc., Cary, NC , EE. UU.), en el cual se utilizó la prueba U Mann Whitney Wilcoxon.

### **6.Resultados**

A continuación, se presentan los resultados en imágenes de ovarios colectados (Imagen 11) para su evaluación morfológica macroscópica de las 12 cerdas, 6 en la etapa de proestro imágenes 1 y 2, y 6 cerdas en estro imágenes 3 y 4.

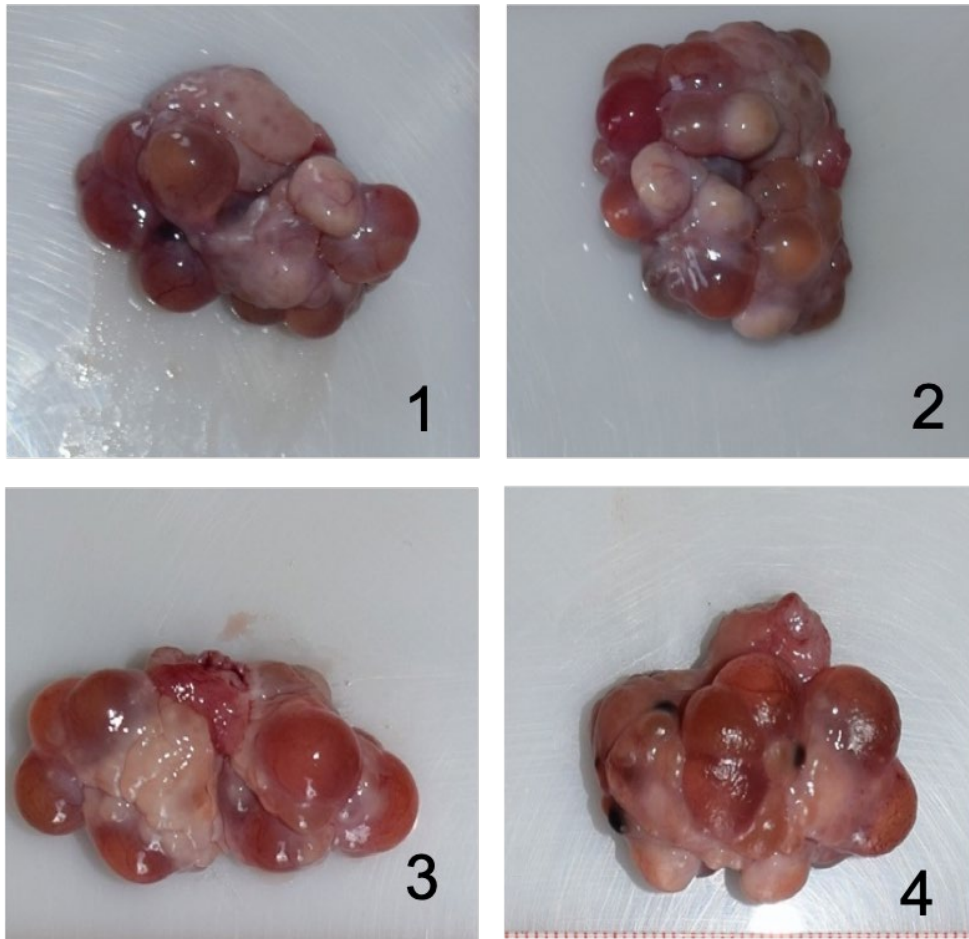


Imagen 11 Proestro: Grupo 1. Control , Grupo 2, tratados con eCG+hCG : Estro: Grupo 3, control y Grupo 4, tratados con eCG+hCG.

Posteriormente de cada uno de los ovarios, se realizó el estudio microscópico, para lo cual se observaron 10 laminillas por cada ovario, divididas en 6 campos de observación. En el **Cuadro 5**, se presentan los resultados para la etapa del Proestro, mientras que en el **Cuadro 6**, se presentan los resultados de la etapa del Estro.

Cuadro 5 Estructuras ováricas encontradas en cerdas nulíparas durante la etapa de proestro en Grupo 1, control (n = 10) y Grupo 2, con eCG+hCG (n = 10).

Estructura	Proestro	
	Grupo 1	Grupo 2
Folículo primordial	21 <sup>a</sup>	27 <sup>a</sup>
Folículo primario	47 <sup>a</sup>	46 <sup>a</sup>
Folículo secundario	15 <sup>a</sup>	21 <sup>a</sup>
Folículo terciario	114 <sup>a</sup>	126 <sup>a</sup>
Cuerpo Lúteo	9 <sup>a</sup>	6 <sup>a</sup>
Cicatriz	7 <sup>a</sup>	8 <sup>a</sup>
Total	213	234

Literales diferentes en la misma fila (p<0.05).

Cuadro 6 Estructuras ováricas encontradas en cerdas nulíparas durante la etapa de estro en Grupo 3, control (n = 10) y Grupo 4 con eCG+hCG (n = 10).

Estructura	Estro	
	Grupo 3	Grupo 4
Folículo primordial	2 <sup>a</sup>	5 <sup>a</sup>
Folículo primario	22 <sup>a</sup>	43 <sup>a</sup>
Folículo secundario	12 <sup>a</sup>	13 <sup>a</sup>
Folículo terciario	70 <sup>a</sup>	101 <sup>b</sup>
Cuerpo Lúteo	3 <sup>a</sup>	6 <sup>a</sup>
Cicatriz	10 <sup>a</sup>	13 <sup>a</sup>
Total	119	181

Literales diferentes en la misma fila (p<0.05).

En el cuadro 5, se muestran los valores del Grupo 1 y 2 en el cual no se observó significancia estadística (p<0.05) al comparar las estructuras, sin embargo, en la

tabla 6, donde se encuentran los valores del Grupo 3 y 4, encontrándose diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) por efecto de tratamiento en los folículos terciarios.

A continuación, en el Cuadro 7, se presentan los resultados para el radio, diámetro y el área (mm) respectivamente, para la etapa de proestro en los grupos 1 (control) y 2 (eCG+hCG).

Cuadro 7 Radio (mm), Diámetro (mm) y Área (mm), de las estructuras ováricas encontradas en cerdas nulíparas durante la etapa de Proestro en Grupo 1 control (n = 10) y Grupo 2 eCG+hCG (n = 10).

Proestro		
<b>Radio (mm)</b>		
Estructura	Grupo 1 Media $\pm$ DS	Grupo 2 Media $\pm$ DS
Folículo primordial	0.073 $\pm$ 0.058 <sup>a</sup>	0.111 $\pm$ 0.038 <sup>b</sup>
Folículo primario	0.373 $\pm$ 0.070 <sup>a</sup>	0.434 $\pm$ 0.039 <sup>b</sup>
Folículo secundario	0.783 $\pm$ 0.098 <sup>a</sup>	1.034 $\pm$ 0.182 <sup>b</sup>
Folículo terciario	3.373 $\pm$ 0.609 <sup>a</sup>	3.826 $\pm$ 0.252 <sup>b</sup>
Cuerpo Lúteo	8.074 $\pm$ 1.893	7.967 $\pm$ 0.462
Cicatriz	7.421 $\pm$ 12.512	4.094 $\pm$ 0.871
<b>Diámetro (mm)</b>		
Folículo primordial	0.146 $\pm$ 0.115 <sup>a</sup>	0.222 $\pm$ 0.076 <sup>b</sup>
Folículo primario	0.747 $\pm$ 0.140 <sup>a</sup>	0.868 $\pm$ 0.077 <sup>b</sup>
Folículo secundario	1.567 $\pm$ 0.197 <sup>a</sup>	2.067 $\pm$ 0.365 <sup>b</sup>
Folículo terciario	6.747 $\pm$ 1.217 <sup>a</sup>	7.651 $\pm$ 0.505 <sup>b</sup>
Cuerpo Lúteo	16.149 $\pm$ 3.786	15.935 $\pm$ 0.923
Cicatriz	14.842 $\pm$ 25.025	8.188 $\pm$ 1.743
<b>Área (mm)</b>		
Folículo primordial	1.547 $\pm$ 0.808 <sup>a</sup>	1.547 $\pm$ 0.808 <sup>b</sup>
Folículo primario	36.336 $\pm$ 72.865 <sup>a</sup>	36.336 $\pm$ 72.865 <sup>b</sup>

Folículo secundario	177.798 ± 177.798	177.798 ± 177.798
Folículo terciario	777.201 ± 162.871 <sup>a</sup>	777.201 ± 162.871 <sup>b</sup>
Cuerpo Lúteo	2127.307 ± 345.024 <sup>a</sup>	2127.307 ± 345.024 <sup>b</sup>
Cicatriz	214.024 ± 91.171	214.024 ± 91.171

Literales diferentes en la misma fila (p<0.05).

Grupo1= control, Grupo 2 = ECG + HCG

En el Cuadro 8 se presentan los resultados para el radio, diámetro y el área (mm) respectivamente, para la etapa de estro en los grupos 3 (control) y 4 (eCG+hCG).

Tabla 8 Radio (mm), Diámetro (mm) y Área (mm) de las estructuras ováricas encontradas en cerdas nulíparas durante la etapa de Proestro en Grupo 3 control (n = 10) y Grupo 4 eCG+hCG (n = 10).

Estro		
Radio (mm)		
Estructura	Grupo 3 Media ± DS	Grupo 4 Media ± DS
Folículo primordial	0.110 ± 0.009	0.081 ± 0.024
Folículo primario	0.647 ± 0.494 <sup>a</sup>	0.383 ± 0.162 <sup>b</sup>
Folículo secundario	1.262 ± 0.583 <sup>a</sup>	0.683 ± 0.195 <sup>b</sup>
Folículo terciario	2.832 ± 1.501 <sup>a</sup>	2.511 ± 1.652 <sup>b</sup>
Cuerpo Lúteo	11.777 ± 5.206 <sup>a</sup>	7.432 ± 2.361 <sup>b</sup>
Cicatriz	1.179 ± 0.313	1.182 ± 0.581
Diámetro (mm)		
Folículo primordial	0.2198 ± 0.0183	0.164 ± 0.048
Folículo primario	1.293 ± 0.988 <sup>a</sup>	765.793 ± 0.324 <sup>b</sup>
Folículo secundario	2.524 ± 1.166 <sup>a</sup>	1.366 ± 0.391 <sup>b</sup>
Folículo terciario	5.664 ± 3.002 <sup>a</sup>	5.024 ± 3.304 <sup>b</sup>
Cuerpo Lúteo	23.553 ± 10.411 <sup>a</sup>	14.865 ± 4.723 <sup>b</sup>
Cicatriz	2.357 ± 0.625	2.363 ± 1.162
Área (mm)		
Folículo primordial	2.152 ± 1.052	1.214 ± 0.707

Folículo primario	70.135 ± 48.208	38.865 ± 31.732
Folículo secundario	219.583 ± 156.13	109.386 ± 50.391
Folículo terciario	1531.029 ± 1451.254	1396.501 ± 1591.953
Cuerpo Lúteo	6340.089 ± 2307.774	5322.238 ± 1868.268
Cicatriz	261.621 ± 123.004	278.931 ± 203.061

Literales diferentes en la misma fila ( $p < 0.05$ ).

Grupo 3= control, Grupo 4 = ECG + HCG

El análisis estadístico se realizó a través de la prueba U Mann Whitney Wilcoxon.

## 7. Discusión

El rendimiento reproductivo óptimo se gestiona mediante diferentes estrategias para cumplir con las expectativas de alto rendimiento de las granjas modernas. Se han utilizado hormonas para controlar las funciones reproductivas de cerdas y primerizas en diferentes protocolos para optimizar las prácticas de manejo y mejorar la eficiencia general de la producción porcina. Los productos farmacéuticos, como los análogos de progesterona y las gonadotropinas, se usan comúnmente en la práctica para ayudar al desempeño reproductivo de cerdas y nulíparas (Am-in, et al, 2019).

En este estudio, se proporciona evidencia macroscópica y microscópica del efecto tras la aplicación de la combinación de gonadotropinas exógenas en comparación con el grupo control en los folículos de cerdas nulíparas. Las variables cuantitativas (número, radio, diámetro y el área) indican que las gonadotropinas utilizadas en el manejo del desempeño reproductivo de cerdas primerizas modifican la morfometría de los folículos.

El tamaño de las estructuras ováricas es variable de acuerdo a la etapa de desarrollo en la que se encuentren. Incluso, algunas no poseen forma circular u ovalada bien definida, poder analizar variables como diámetro, radio y área podrá proveer más información, ya que hay poca bibliografía que proporcione estos datos.

### **Diferencias en la cantidad de folículos**

Diversos autores como Falceto (2015) y Manjarín (2009) clasifican a los folículos como pequeños (2-3 mm), medianos (4-6 mm) y grandes (7-12 mm), por lo que en este apartado relacionamos nuestros datos de acuerdo con estos tamaños y no directamente al estadio folicular que incluye a los folículos: primordial, primario, secundario y terciario.

Con respecto a ello, en el presente estudio se encontraron, Cuadro 5, 15 y 21 folículos secundarios (pequeños) en la etapa de proestro sin y con hormonas exógenas respectivamente y 114 folículos terciarios (grandes) sin tratamiento y 126 folículos terciarios en cerdas con eCG+hCG; además de (Cuadro 6) 12 y 13 folículos secundarios (pequeños) sin y con hormonas exógenas respectivamente y 70 folículos terciarios (grandes) sin tratamiento y 101 folículos terciarios en cerdas con eCG+hCG en la etapa de estro. Solorio (2002) encontró 23.2 folículos pequeños en cerdas sin tratamiento y 10.9 de estos folículos en cerdas con gonadotropinas exógenas, 4.6 y 0 en folículos medianos en cerdas sin tratamiento



y tratadas con eCG+hCG respectivamente y 0.9 y 10.8 en folículos medianos en cerdas sin tratamiento y tratadas con eCG+hCG respectivamente en la etapa de estro. Nuestros resultados contrastan con lo publicado por Solorio (2002), ya que la cantidad de folículos grandes es diferente en la etapa de Estro en las cerdas después de usar gonadotropinas exógenas en contraste con las cerdas sin tratamiento. Adicionalmente, también comenta que el número de folículos pequeños se redujo. De igual manera, Am-in (2019) encontraron un aumento de folículos grandes de 17.3 en el grupo control a 18.9 tras la aplicación de 400 UI de eCG con 200 UI de hCG (PG600 ®). La aplicación simultánea de una dosis de (400 UI de eCG y 200 UI de hCG) en cerdas ha permitido el crecimiento y desarrollo de una mayor cantidad de folículos terciarios, ya que se ha demostrado que esta dosis logra inducir el estro y la ovulación en contraste con la dosis utilizada por Solorio 1 200 UI eCG + 500 UI hCG, la cual no se usa con la misma frecuencia pese a que existe evidencia de que, producen mejores resultados en cuanto a inducción y sincronización del estro que dosis menores, aumenta a su vez el número de ovulaciones y tamaño de la camada, sin embargo en algunos casos se han provocado alteraciones en el proceso de ovulación como es la formación de quistes foliculares, el uso de diferentes dosis pudo influir en la diferencia de nuestros resultados.

### **Diferencias en el tamaño de los folículos**

Con la intención de poder comparar los resultados que se muestran en este trabajo, con los encontrados por algunos autores, se tomarán en cuenta las

medidas foliculares de pequeño, mediano y grande. En relación con diámetro o tamaño, en el presente estudio se encontraron folículos terciarios (medianos a grandes)  $6.747 \pm 1.217$  y  $7.651 \pm 0.505$  mm de diámetro para la etapa de proestro grupo 1 y 2 respectivamente y  $5.664 \pm 3.002$  y  $5.024 \pm 3.304$  para la etapa de estro grupo 3 y 4 respectivamente, lo cual concuerda con Knox, (2015) que reporta que en fase folicular, pueden estar presentes folículos pequeños y medianos de 3 a 6,4 mm sin tratamiento, mientras que (Manjarin et al., 2009) sus resultados varían en el rango del diámetro de 1 a 4 mm, observadas por ecografía transrectal.

Manjarin (2009) comenta que después del uso de PG600, la mayoría de las nulíparas en su estudio tenían solo folículos pequeños (1–2 mm) en sus ovarios y pocas primerizas (al menos un parto) tenían folículos >2 mm de diámetro. También menciona que, aunque se midieron folículos de 4 mm en dos de las primerizas tratadas con PG600, la posibilidad de que fueran demasiado inmaduras para responder a la estimulación gonadotrófica no se puede descartar, además se debe considerar que estas medidas se tomaron con ecografía transrectal. Contrario a esto, en el presente estudio, los folículos terciarios (medianos) tras la aplicación de gonadotropinas fueron de 5.024 mm de diámetro, no concuerda con el tamaño mencionado por Williams, et al, 2010, quienes refieren que folículos de 6 mm fueron visualizados a las 20 h previas al inicio del estro y folículos de 7 y 8 mm (al inicio del estro), mientras que los folículos de 9 mm sólo fueron observados en algunas de las hembras y próximo al momento de ovulación.

Los folículos de tamaño ovulatorio, o aquellos folículos que se cuentan y miden con mayor frecuencia alrededor del estro, suelen tener entre 6 y 12 mm, dependiendo de si se miden por ultrasonido (6 a 8 mm) o por medición física (8 a 12 mm). Existe evidencia de que no todos los folículos en la etapa Estro tienen el mismo tamaño. (Hunter y Wieszak, 1990) y (Knox *et al.*, 2009). Considerando lo anterior, en el presente estudio el promedio de diámetro folicular tras la aplicación del tratamiento fue 7.651mm en proestro y 5.024mm en estro.

### **Diferencia de tamaño en folículos primarios.**

Según Hirshfie (1991), los folículos primarios constan de un ovocito rodeados por una capa unilaminar de células pre-granulosas de morfología cúbica. Estas células presentan gran actividad mitótica y darán lugar a las células de la granulosa formando un epitelio estratificado, entre el ovocito y las células de la granulosa circundantes se originan espacios, donde se deposita una sustancia que representa el inicio de la zona pelúcida (ZP). Por lo tanto, la adquisición de la ZP es una característica del folículo preantral primario (Thibault, et al, 1987).

En este estadio, comienzan la mitosis de estas células, el folículo aumenta su tamaño. Las células granulosas cuboidales se dividen formando varias capas alrededor del ovocito, de este modo, el folículo primario se transforma en folículo preantral multilaminar comenta Fortune (2003), sin aún llegar ser un folículo secundario, ya que la principal característica de este es la formación de cavidades en el espacio extracelular llenas de un fluido denominado fluido folicular (Filipiak,

et al, 2016). A medida que la cantidad de líquido folicular aumenta, las cavidades que ocupan también aumentan de tamaño para formar el antro. (Thibault, et al, 1987)

Esto podría explicar la diferencia encontrada entre los folículos primarios después del uso de gonadotropinas exógenas y el grupo control, ya que no se tomo en cuenta la diferencia entre folículos unilaminares y multilaminares al ser evaluados, todos se evaluaron como un mismo grupo dado que en cerdos no existe evidencia que respalde el uso de esta subclasificación, esta es usada con mayor frecuencia en bovinos y humanos, ya que al tener marcadas las oleadas foliculares es mas fácil identificarlos, aunque se tomo en cuenta el tamaño y el inicio en la formación de una cavidad para la aceptación o descarte todos los folículos primarios, es impotante considerarlo para futuros estudios.

Por otro lado Hirata (2018) observó crecimiento folicular (>1,0 mm de diámetro) en perras después de la administración de eCG+hCG, y apareció un nuevo crecimiento folicular de 2 a 8 días después de la administración de eCG+hCG. El diámetro medio de los folículos y el número máximo de folículos oscilaron entre 2.8 y 5.5 mm, lo cual podría hacernos pensar que en cerdas tuvo un efecto similar, estimulando el crecimiento y desarrollo de folículos preantrales en la fase folicular.

### **Diferencia de tamaño en secundarios y terciarios.**

De acuerdo al estudio de Breen (2006), el número de folículos grandes en el estro es influenciado por la dosis de PG 600 ( $p < 0.01$ ). Las dosis de 1,0 × y 1,5 × de

PG600 aumentaron el número de folículos grandes en comparación con las dosis de 0,5 x. De acuerdo con ello en nuestro estudio se utilizó una dosis (400 UI (1,0 x) de eCG+200 UI de hCG) lo cual coincide con sus resultados ya que el número de los folículos grandes tuvo una respuesta similar. También menciona que la dosis de PG600 no influyó ( $p > 0.10$ ) en el tamaño del folículo grande en el estro, contrario a nuestros hallazgos. En donde se noto diferencia entre tratamientos en la etapa de proestro y los folículos secundarios 10.40, 24.28 ( $p < 0.05$ ) y terciario 90.51, 147.63 ( $p < 0.05$ ), para los Grupos 1 y 2 respectivamente y en la etapa estro fue 17.33, 9.00 ( $p < 0.05$ ) en el secundario y 94.88, 79.84 ( $p < 0.05$ ) para el terciario, Grupo 3 y 4 respectivamente.

Nissen (1995) comenta que, el grupo de control mostró, en el día 3 (estro) folículos que eran típicamente de 3-7 mm y crecieron hasta 7-10 mm durante 2 días, donde permanecieron durante aproximadamente 24 h hasta que se produjo la ovulación. El grupo de hCG mostró folículos que alcanzaron 5-8 mm de diámetro en el momento de la ovulación.

Como se muestra en los resultados en la etapa de proestro hubo 40 % más folículos secundarios en el grupo con eCG +hCG mientras que folículos terciarios hubo 8.33 % más, por otro lado, en la etapa de estro hubo 10.5 % más folículos secundarios en el grupo con eCG +hCG mientras que folículos terciarios hubo 44.28 % más respuesta.

Aunque es especulativo, se ha mencionado que la administración de hCG podría estar seleccionando folículos adicionales sólo en el momento de la inyección, mejorando el crecimiento folicular. (Manjarín, 2013)

De acuerdo con ello Lewchalermwong, *et al* (2020), explican que la mayoría de las primerizas de su experimento también desarrollaron folículos grandes el día 3 después de la inyección de PG600 con un tamaño folicular promedio de 7,1 mm.

Si bien la mayoría de las nulíparas expresaron celo y ovularon, hubo una variación considerable en el número de folículos y el tamaño, así como las concentraciones de estrógeno en el día 3.

Los resultados del experimento de (Manjarín, 2013) respaldan el efecto positivo de la hormona hCG en el crecimiento folicular, ya que aunque no se realizó la medición del diámetro, sí indicó aumento en el porcentaje de cerdas prepúberes con niveles de P4  $\geq$  30 ng/mL cuando la PG600 fue suplementada con hCG 24 o 48 h después. Ziecik (2021) también menciona que las diferentes propiedades endocrinas de la LH y la hCG, comprenden un potente papel progestacional y androgénico y una acción prodesarrollista y antiapoptótica de la LH en el control de los folículos preovulatorios porcinos.

Además, Hunter y Wiesak (1990) comentan que la variación en la población folicular dentro de un animal en cada grupo, en términos de diámetro del folículo, progesterona, estradiol y secreción de progesterona, fue mayor en los animales tratados con eCG que en los animales cíclicos ( $P < 0,05$ ).

Breen, et al , 2006 mencionan que existe una variación considerable en la respuesta de las primerizas a las hormonas exógenas en el desarrollo de folículos grandes, la tasa de ovulación, la expresión del estro y la duración del ciclo estral. Por ejemplo, cuando las primerizas prepuberales son tratadas con PG600 la respuesta mejora significativamente con la edad, la exposición al verraco o la dosis de gonadotropina.

Estos hallazgos son consistentes con el concepto de que el uso de hormonas exógenas está involucrado en la variación del tamaño folicular.

### **Diferencias de tamaño en cuerpos lúteos.**

La eCG + hCG actúa como las dos hormonas más importantes para el desarrollo de los folículos, la ovulación y la formación del cuerpo lúteo (García, 2005). El principal efecto observado es el incremento en la concentración plasmática de progesterona acompañado en varios casos, por un incremento en el número de cuerpos lúteos accesorios en ovinos (Catalano, et al, 2016). Estudios realizados con estas hormonas en cerdas, indican que la hCG estimula el crecimiento de los folículos estrogénicos y la función del cuerpo lúteo.(PIC, 2017).

Nissen (1995) , Downey y Draincourt, (1994) informaron que la administración de hormonas exógenas como GnRH o hCG de forma temprana, en la etapa de

desarrollo del folículo, puede causar la ovulación de más folículos inmaduros, inducir quistes o inhibir la expresión del estro. En la cerda, esto parece ser el resultado de la luteinización temprana de las células foliculares en respuesta a la hCG, que puede detectarse mediante cambios en la producción de esteroides dentro de las 24 horas in vitro y dentro de las 48 horas in vivo.

Hunter y Wieszak, (1990) mencionan que tanto la heterogeneidad folicular morfológica como bioquímica continúa hasta el período preovulatorio inmediato, es lógico predecir que esto tendrá consecuencias para la formación del cuerpo lúteo, Rao y Edgerton (1984) informaron disimilitudes entre los cuerpos lúteos (CL) dentro del mismo ovario y también entre los ovarios izquierdo y derecho, mientras que Ottobre (1984) concluyeron que había poca variabilidad entre los cuerpos lúteos y que los ovarios de cerdo contenían una población homogénea de estos.

En el ganado, las diferencias en los patrones de producción de progesterona sugieren que la hCG puede ser mejor para inducir la formación de cuerpos lúteos en comparación con la GnRH (buserelina) debido a la vida media reducida de la actividad de la LH (5 horas) en comparación con la hCG (30 horas) De Rensis (2010).

La diferencia en el número de cuerpos lúteos podría estar asociado a una mayor producción endógena de andrógenos. En este sentido, la administración de testosterona en cerdas prepúberes aumentó el número de folículos preovulatorios y cuerpos lúteos, mientras que la superovulación del hámster mediante la



administración de hCG estuvo asociada a un aumento en la síntesis de andrógenos a nivel folicular. Además de un mayor número de cuerpos lúteos, la dosis de hCG (200 IU) también indujo quistes foliculares en la mayoría de las cerdas, como mencionan Cárdenas y Pope (2002).

Las observaciones obtenidas en este estudio respecto a las medidas de los cuerpos lúteos han demostrado que estas pueden variar ( $p < 0,05$ ). Ya que presentaron un diámetro de  $16.149 \pm 3.786$  y  $15.935 \pm 0.923$  en la etapa de proestro en el grupo 1 y 2 respectivamente y de  $23.553 \pm 10.411$  y  $14.865 \pm 4.723$  en la etapa de estro en el grupo 3 y 4 respectivamente.

Lewchalermwong, et al, 2020 indican que la variación en la respuesta a gonadotropinas exógenas no se pudo atribuir a medidas asociadas con los folículos, el peso corporal o la grasa dorsal en el momento del tratamiento con eCG + hCG. Sin embargo, la respuesta ovárica a las gonadotropinas al considerar los cambios en el número y tamaño de los folículos y la producción de estrógeno indica que una parte considerable de la variación en la respuesta podría estar en el ovario. La variación en el número y las etapas de madurez de los folículos en el momento de la administración de eCG + hCG podría ser un factor determinante en la respuesta tanto a eCG como a hCG y afectar la selección de folículos que a su vez afecta la producción de estrógeno.

El estado de madurez del hipotálamo y la hipófisis podría ser el factor determinante en el grado de variación en el tamaño del folículo más grande, el

número de folículos grandes y la concentración de estrógeno que podría ser el resultado de la variación en la tasa de desarrollo de los folículos porque no se espera que todas las primerizas respondan a las hormonas al mismo ritmo. Esto respalda las observaciones preliminares que indican que existe heterogeneidad en los folículos seleccionados el día 3 después del tratamiento con PG600 en primerizas (Breen, 2009).

Una revisión de los estudios centrados en la fase folicular en el cerdo proporciona evidencia clara de que existe heterogeneidad en la población de folículos ovulatorios en el estro tanto en el número de células de la granulosa como en la producción de estrógenos Hunter (1989); Knox (2019). Esto puede explicar también la variación del tamaño de las estructuras tras recibir una estimulación exógena con gonadotropinas.

## 8. Conclusión

Bajo las condiciones de este estudio, podemos concluir que la observación de las estructuras ováricas a través de la histología no mostró cambios en la cantidad de folículos en la etapa de proestro sin embargo hubo diferencia en la cantidad de folículos terciarios en la etapa de estro por efecto del tratamiento.

Asimismo, mostró que la administración de eCG+hCG provocó cambios morfométricos en las diferentes estructuras ováricas, principalmente sobre los folículos secundarios y terciarios en ambas etapas.

La variación en la respuesta de las cerdas nulíparas a eCG+hCG se relaciona con la variación en la respuesta del folículo en el ovario y por lo tanto con la variación en el número y tamaño de los folículos.

## 9. Recomendaciones

Se recomienda desarrollar más investigación respecto al efecto del tratamiento de gonadotropinas exógenas sobre el tamaño de folículos primordiales. Además de tomar de consideración si la clasificación de folículos establecida como folículo pequeño, mediano y grande es suficiente para su evaluación o si es mejor tomar

en cuenta el estadio de desarrollo folicular específico para la obtención y valoración de resultados.

Aún se requiere más investigación para revelar los mecanismos que gobiernan las numerosas relaciones entre las gonadotropinas exógenas/endógenas y la madurez sexual durante el desarrollo y la función de los folículos preovulatorios.

Efectuar este tipo de investigación con un mayor número de animales de tal forma que se pueda apreciar de mejor manera la variabilidad entre los tratamientos aplicados podría ayudar a confirmar este estudio.

## 10. Referencias

3tres3 (2020) *Comparador de datos reproductivos - 3tres3, la página del Cerdo, 3tres3*. Available at: <https://www.3tres3.com/comparador-datos-reproductivos/> (Accessed: 14 June 2021).

Am-in, N., Techakumphu, M. and Kirkwood, R. (2019) 'Effect of altering the ratio of exogenous gonadotropins on reproductive performance of primiparous sows during the seasonal infertility period', *Canadian Journal of Animal Science*, 99(1), pp. 202–205. doi:10.1139/cjas-2018-0060.

Andersson, L. *et al.* (1994) 'Genetic mapping of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs', *Science (New York, N.Y.)*, 263(5154), pp. 1771–1774. doi:10.1126/science.8134840.

Anuvongnukroh, W. *et al.* (2004) 'THE EFFECT OF PARITY NUMBER, BODY CONDITION SCORE, BACKFAT THICKNESS AND WEANING TO OESTRUS INTERVAL ON THE TIME OF OVULATION IN SOWS', *The Thai Journal of Veterinary Medicine*, 34(2), pp. 69–75. Available at: <https://he01.tci-thaijo.org/index.php/tjvm/article/view/37308> (Accessed: 25 May 2021).

Arenas, C.E.M. (no date) 'TÉCNICA HISTOLÓGICA', p. 12.

Banks, W. (1986) *Histología reproductiva. Histología veterinaria aplicada*. Primera edición. México: El manual moderno S.A. de C.V.

Bates, R.O. *et al.* (2000) 'Hormonal therapy for sows weaned during fall and winter2', *Journal of Animal Science*, 78(8), pp. 2068–2071. doi:10.2527/2000.7882068x.

Bortolozzo, F.P. *et al.* (2009) 'Growth, body state and breeding performance in gilts and primiparous sows', *Society of Reproduction and Fertility Supplement*, 66, pp. 281–291.

Bravo, O. (2015) 'PAUTAS PARA EL MANEJO REPRODUCTIVO DE LAS CERDAS', *Sitio Argentino de Producción Animal*. Available at: [https://www.produccion-animal.com.ar/produccion\\_porcina/00-reproduccion\\_IA\\_porcinas/41-Pautas.pdf](https://www.produccion-animal.com.ar/produccion_porcina/00-reproduccion_IA_porcinas/41-Pautas.pdf).

Breen, S.M., Rodriguez-Zas, S.L. and Knox, R.V. (2006) 'Effect of altering dose of PG600 on reproductive performance responses in prepubertal gilts and weaned sows', *Animal Reproduction Science*, 95(3–4), pp. 316–323. doi:10.1016/j.anireprosci.2005.12.007.

Cárdenas, H. and Pope, W.F. (2002) 'Control of ovulation rate in swine', *Journal of Animal Science*, 80(E-suppl\_1), pp. E36–E46. doi:10.2527/animalsci2002.0021881200800ES10007x.

Caballero (1995) *Características morfologías de folículos de cerdas prepuberes*.

Calderón Díaz, J.A. *et al.* (2015) 'Age at puberty, ovulation rate, and uterine length of developing gilts fed two lysine and three metabolizable energy concentrations from 100 to 260 d of age', *Journal of Animal Science*, 93(7), pp. 3521–3527. doi:10.2527/jas.2014-8522.

Calles, M. (2019) *CARACTERIZACIÓN HISTOLÓGICA DEL OVARIO DE LA CERDA EN LAS DIFERENTES ETAPAS DEL CICLO ESTRAL*. Universidad Autónoma de México.

Carrera, V., Sánchez, A. and Munguía, J. (2019) *Uso Específico de Gonadotropinas para Mejorar la Eficiencia Reproductiva del Hato*, *BM editores*. Available at: <https://bmeditores.mx/porcicultura/uso-especifico-de-gonadotropinas-para-mejorar-la-eficiencia-reproductiva-del-hato-2162/> (Accessed: 27 May 2021).

Catalano, R., Teruel, M. and Callejas, S. (2016) 'Gonadotropina coriónica humana y su relación con la función luteal y la respuesta reproductiva en ovinos', *InVet*, 18(1), pp. 19–28. Available at: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179149887003> (Accessed: 31 March 2022).

Chen, X. *et al.* (2008) 'Epidermal growth factor receptor activation by protein kinase C is necessary for FSH-induced meiotic resumption in porcine cumulus-oocyte complexes', *The Journal of Endocrinology*, 197(2), pp. 409–419. doi:10.1677/JOE-07-0592.

Christenson, R.K. and Teague, H.S. (1975) 'Synchronization of Ovulation and Artificial Insemination of Sows after Lactation', *Journal of Animal Science*, 41(2), pp. 560–563. doi:10.2527/jas1975.412560x.

Cintra, D.M.M.F. *et al.* (2006) 'Características reproductivas de la cerda. Influencia de algunos factores ambientales y nutricionales', *REDVET* [Preprint]. Available at: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DJ2012033836> (Accessed: 28 May 2019).

Clarke, I.J. (1989) 'The GNRH/gonadotropin axis in the ewe, cow and sow', *Domestic Animal Endocrinology*, 6(1), pp. 1–14. doi:10.1016/0739-7240(89)90002-7.

Contreras, A., Trujillo, M.E. and Hernández, E. (2015) 'Morfofisiología del

aparato reproductor.', in *La cerda reproductora*. 1st edn. México: FMVZ, pp. 23–33.

De Buen de Argüero, N. (2001) *Citología diagnóstica veterinaria*. 1a ED. México: Manual Moderno. Available at: <https://www.laleo.com/citologia-diagnostica-veterinaria-p-530.html> (Accessed: 7 April 2022).

De Rensis, F. *et al.* (2010) 'Clinical use of human chorionic gonadotropin in dairy cows: an update', *Theriogenology*, 73(8), pp. 1001–1008. doi:10.1016/j.theriogenology.2009.11.027.

DOF - *Diario Oficial de la Federación* (no date). Available at: [http://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5405210&fecha=26/08/2015](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5405210&fecha=26/08/2015) (Accessed: 28 September 2019).

Downey, B.R. and Draincourt, M.A. (1994) 'Morphological and functional characteristics of preovulatory follicles in large white and Meishan gilts', *Journal of Animal Science*, 72(8), pp. 2099–2106. doi:10.2527/1994.7282099x.

Estienne, M.J. and Crawford, R.J. (2015) 'Characteristics of estrous cycles in gilts treated with gonadotropins after estrus or treatment with a progestogen', *Theriogenology*, 83(4), pp. 459–465. doi:10.1016/j.theriogenology.2014.03.004.

*Facultad de Veterinaria* (no date). Available at: <https://veterinaria.ucm.es/el-ovario> (Accessed: 4 September 2019).

Falceto, M.V. *et al.* (2014) 'Uso de tratamientos hormonales para el control reproductivo de la cerda', pp. 14–19p.

Fernandez, C. (2010) *Casos clínicos de citología en el perro y el gato*. Servet. Available at: <https://store.grupoasis.com/es/citologia/67-casos-clinicos-de-citologia-en-el-perro-y-el-gato.html> (Accessed: 7 April 2022).

Filipiak, Y., Viqueira, M. and Bielli, A. (2016) 'Desarrollo y dinámica de los folículos ováricos desde la etapa fetal hasta la prepuberal en bovinos', *Veterinaria (Montevideo)*, 52(202), pp. 2–2. Available at: [http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1688-48092016000200002&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1688-48092016000200002&lng=es&nrm=iso&tlng=es) (Accessed: 22 March 2022).

Fitko, R. *et al.* (1996) 'The concentration of GnRH in hypothalamus, LH and FSH in pituitary, LH, PRL and sex steroids in peripheral and ovarian venous plasma of hypo- and hyperthyroid, cysts-bearing gilts', *Animal Reproduction Science*, 45(1–2), pp. 123–138. doi:10.1016/S0378-4320(96)01568-0.

Fortune, J.E. (2003) 'The early stages of follicular development: activation of primordial follicles and growth of preantral follicles', *Animal Reproduction Science*, 78(3), pp. 135–163. doi:10.1016/S0378-4320(03)00088-5.

Gamba, R., Trujillo, M.E. and Mota, D. (2015) 'Introducción a la reproducción porcina', in *La cerda reproductora*. 1st edn. México: FMVZ, pp. 11–22.

García, B. (2005) *Efecto de la PG 600® en la inducción del estro y prolificidad en cerdas posdestete*. Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria. Available at: chrome-extension://oemmdcbldboiebfnladdacbfmadadm/https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/5220/1/CPA-2005-T036.pdf.

Gaspa, D.B. (1997) *EVALUACIÓN GENÉTICA DE REPRODUCTORES PORCINOS EN POBLACIONES ABIERTAS*. UNIVERSITAT DE LLEIDA.

Guthrie, H.D. *et al.* (1995) 'Follicular atresia in pigs: measurement and physiology', *Journal of Animal Science*, 73(9), pp. 2834–2844. doi:10.2527/1995.7392834x.

Guthrie, H.D. and Cooper, B.S. (1996) 'Follicular Atresia, Follicular Fluid Hormones, and Circulating Hormones During the Midluteal Phase of the Estrous Cycle in Pigs<sup>1</sup>', *Biology of Reproduction*, 55(3), pp. 543–547. doi:10.1095/biolreprod55.3.543.

Hiatt J, G.L. (2002) *Histología texto y atlas*. 3 er.

Hirata, M. *et al.* (2018) 'Follicular development of canine ovaries stimulated by a combination treatment of eCG and hCG', *Veterinary Medicine and Science*, 4(4), pp. 333–340. doi:10.1002/vms3.121.

Hirshfield, A.N. (1991) 'Development of follicles in the mammalian ovary', *International Review of Cytology*, 124, pp. 43–101. doi:10.1016/s0074-7696(08)61524-7.

Hunter, M.G. and Wiesak, T. (1990) 'Evidence for and implications of follicular heterogeneity in pigs', *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 40, pp. 163–177.

Hurtgen, J.P. and Leman, A.D. (1979) 'Use of PMSG in the prevention of seasonal post-weaning anestrus in sows', *Theriogenology*, 12(4), pp. 207–214. doi:10.1016/0093-691x(79)90004-9.

Hutu, I., Oldenbroek, K. and Waaij, L. (2020) 'Chapter II. 3. Breeding goals', in, p. 25. doi:10.13140/RG.2.2.14876.00640.

Javier Galina (2012) *Reproduccion de los animales domesticos*. 3er edn.

Jiménez, C. (2011) 'Fisiología de ciclo estral de la cerda'. Universidad Nacional de Colombia.

Knauer, M. and Van Heugten, E. (2020) *Slow pig growth by turning back the*



*clock on your feeding program, National Hog Farmer*. Available at: <https://www.nationalhogfarmer.com/nutrition/slow-pig-growth-turning-back-clock-your-feeding-program> (Accessed: 14 June 2021).

Knox, R. *et al.* (2009) 'Assessment of follicle population changes in sows from day of weaning and during estrus using real-time ultrasound', *Society of Reproduction and Fertility Supplement*, 66, pp. 199–200.

Knox, R.V. (2005) 'Recruitment and selection of ovarian follicles for determination of ovulation rate in the pig', *Domestic Animal Endocrinology*, 29(2), pp. 385–397. doi:10.1016/j.domaniend.2005.02.025.

Knox, R.V. (2015) 'Recent advancements in the hormonal stimulation of ovulation in swine', *Veterinary Medicine: Research and Reports*, 6, pp. 309–320. doi:10.2147/VMRR.S68960.

König, H.E. and Liebich, H. (2011) 'Órganos genitales femeninos', in *Anatomía de los Animales Domésticos*. 2da edición. Mexico: Panamericana, pp. 135–151. Available at: <https://www.medicapanamericana.com/Libros/Libro/4570/Coleccion-Konig-Anatomia-de-los-Animales-Domesticos.html> (Accessed: 17 July 2019).

Konig, I. (1978) *Inseminación de la cerda*. 3 ed. Berlin, Alemania: Editorial Acribia, S.A. Available at: [https://www.editorialacribia.com/libro/inseminacion-de-la-cerda\\_53865/](https://www.editorialacribia.com/libro/inseminacion-de-la-cerda_53865/), [https://www.editorialacribia.com/libro/inseminacion-de-la-cerda\\_53865/](https://www.editorialacribia.com/libro/inseminacion-de-la-cerda_53865/) (Accessed: 25 May 2021).

Lanuzá, G. and Barañao, D.J.L. (1999) 'REGULACION DEL DESARROLLO FOLICULAR POR FACTORES PEPTIDICOS INTRAOVARICOS', p. 124.

Larsson, K., Malmgren, L. and Einarsson, S. (1988) 'Exposure of boars to elevated ambient temperature - consequences for hormone secretion, sperm morphology and fertility', *Pig News and Information*, 9(1), pp. 27–30. Available at: <https://eurekamag.com/research/001/592/001592334.php> (Accessed: 14 July 2022).

Lewchalermwong, D., Tummaruk, P. and Knox, R.V. (2020) 'Investigation into the variation in follicular and endocrine responses of prepubertal gilts treated with exogenous gonadotropins', *Animal Reproduction Science*, 223, p. 106622. doi:10.1016/j.anireprosci.2020.106622.

Liu, J. *et al.* (2000) 'Growth and the Initiation of Steroidogenesis in Porcine Follicles Are Associated with Unique Patterns of Gene Expression for Individual Components of the Ovarian Insulin-Like Growth Factor System1', *Biology of Reproduction*, 63(3), pp. 942–952. doi:10.1095/biolreprod63.3.942.

López, J.S.S. *et al.* (2002) 'Two schemes of gonadotropin application in sows

weaned on day ten postpartum: Effects on reproductive function and efficiency', *Veterinaria México*, 33(3), pp. 219–235. Available at: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumenl.cgi?IDARTICULO=5785> (Accessed: 7 September 2021).

Manjarin, R. *et al.* (2009) 'Effect of eCG or eCG Plus hCG on oestrus expression and ovulation in prepubertal gilts', *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*, 44(3), pp. 411–413. doi:10.1111/j.1439-0531.2008.01089.x.

Manjarin, R. (2013) *Nuevas estrategias en el manejo hormonal de la reproducción en las cerdas nulíparas*. tesis doctoral. Available at: [https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/3337/tesis\\_a61a21.PDF;jsessionid=D848BAB5BF2D3F7BC48B0CDA124CCE2B?sequence=1](https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/3337/tesis_a61a21.PDF;jsessionid=D848BAB5BF2D3F7BC48B0CDA124CCE2B?sequence=1).

Manjarrés, O. (2015) *EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LOS OVOCITOS EN CERDAS DE CAMAL SEGÚN CONDICIÓN CORPORAL 2 3 Y 4*. UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES.

María Elena Trujillo Ortega (2004) 'Uso de hormonas exógenas en la producción porcina'. Available at: <https://pdfs.semanticscholar.org/fe9e/07a185bcee68cd4065e5afc60e4a724098bd.pdf>.

Martí Vidal, D. (2020) 'Sincronización i ovulación en la especie porcina'. Available at: <https://repositori.udl.cat/handle/10459.1/70473> (Accessed: 29 September 2021).

May, J. (2014) *Manejando el ciclo estral de las cerdas y primerizas*, *Elsitio Porcino*. Available at: <https://www.elsitioporcino.com/articles/2512/manejando-el-ciclo-estral-de-las-cerdas-y-primerizas/> (Accessed: 26 May 2021).

Montero, A. (2015) *DESARROLLO DE UN ATLAS INTERACTIVO DE LA HISTOLOGIA DEL CERDO, COMO SOPORTE EN EL APRENDIZAJE DE LA MORFOLOGIA ANIMAL*. Tesis maestria. Available at: <http://repositorio.pucesa.edu.ec/bitstream/123456789/1369/1/75757.pdf>.

Mota, D. and Lozano, M. (2015) 'Fisiología y endocrinología del ciclo estral.', in *La cerda reproductora*. México, pp. 67–87.

MSD, S.A.M. (2020) *FICHA TÉCNICA P.G 600®*. Available at: <https://www.msd-salud-animal.mx/productos/pg-600/>.

Nissen, A.K. *et al.* (1995) 'Follicular development and ovulation in sows: effect of hCG and GnRH treatment', *Acta Veterinaria Scandinavica*, 36(1), pp. 123–

133.

Papanicolaou, G. (1956) 'Atlas of exfoliative cytology. By George N. Papanicolaou, M.D., Ph.D. Supplement 1, 16 plates. 1956. Published for the Commonwealth Fund by Harvard University Press, Cambridge, Mass. (London: Cambridge.)', *BJS (British Journal of Surgery)*, 44(185), pp. 333–333. doi:10.1002/bjs.18004418523.

Parámo, M. (2012) 'Morfofisiología de los organos genitales del macho y la hembra', in *Reproducción de los animales domésticos*. 3a edn. México: Limusa, pp. 27–41.

Pascual, I. (2002) 'Reproduccion animal', *SITIO ARGENTINO DE PRODUCCIÓN ANIMAL*. Available at: [https://www.produccion-animal.com.ar/informacion\\_tecnica/inseminacion\\_artificial/186-reprod\\_compendio.pdf](https://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/186-reprod_compendio.pdf).

Patterson, J. *et al.* (2016) 'Validation of the use of exogenous gonadotropins (PG600) to increase the efficiency of gilt development programs without affecting lifetime productivity in the breeding herd<sup>1</sup>', *Journal of Animal Science*, 94(2), pp. 805–815. doi:10.2527/jas.2015-9705.

Patterson, J.L., Beltranena, E. and Foxcroft, G.R. (2010) 'The effect of gilt age at first estrus and breeding on third estrus on sow body weight changes and long-term reproductive performance', *Journal of Animal Science*, 88(7), pp. 2500–2513. doi:10.2527/jas.2008-1756.

PIC (2017) *Uso de hCG en cerdas primíparas para mejorar la fertilidad durante el verano*. Available at: [https://www.3tres3.com/es-mx/abstracts/uso-de-hcg-en-cerdas-primiparas-para-mejorar-la-fertilidad-en-verano\\_10179/](https://www.3tres3.com/es-mx/abstracts/uso-de-hcg-en-cerdas-primiparas-para-mejorar-la-fertilidad-en-verano_10179/) (Accessed: 31 March 2022).

Picton, H., Briggs, D. and Gosden, R. (1998) 'The molecular basis of oocyte growth and development', *Molecular and Cellular Endocrinology*, 145(1–2), pp. 27–37. doi:10.1016/s0303-7207(98)00166-x.

Prunier, A. *et al.* (1987) 'Patterns of circulating LH, FSH, prolactin and E 2 17  $\beta$  in the gilt during the follicular phase of the oestrus cycle', *Annales De Zootechnie - ANN ZOOTECH*, 36, pp. 303–304. doi:10.1051/animres:19870319.

Ptak, A., Gregoraszcuk, E.L. and Rzasa, J. (2003) 'Growth hormone and insulin-like growth factor-I action on progesterone secretion by porcine corpora lutea isolated at various periods of the luteal phase', *Acta Veterinaria Hungarica*, 51(2), pp. 197–208. doi:10.1556/AVet.51.2003.2.8.

Quesnel, H. *et al.* (2010) 'Post-insemination level of feeding does not

influence embryonic survival and growth in highly prolific gilts', *Animal Reproduction Science*, 120(1–4), pp. 120–124. doi:10.1016/j.anireprosci.2010.04.006.

Rangel, L.E. (2009) 'Morfofisiología del aparato reproductor', in *Manual de prácticas de reproducción*. 1er edn. México: FMVZ, pp. 7–31. Available at: [https://fmvz.unam.mx/fmvz/licenciatura/coepa/archivos/manuales\\_2013/Manual%20de%20Practicas%20de%20Reproduccion%20Animal.pdf](https://fmvz.unam.mx/fmvz/licenciatura/coepa/archivos/manuales_2013/Manual%20de%20Practicas%20de%20Reproduccion%20Animal.pdf).

Rao, C.V. and Lei, Z.M. (2007) 'The past, present and future of nongonadal LH/hCG actions in reproductive biology and medicine', *Molecular and Cellular Endocrinology*, 269(1–2), pp. 2–8. doi:10.1016/j.mce.2006.07.007.

Richards, J.S. (2001) 'Perspective: the ovarian follicle--a perspective in 2001', *Endocrinology*, 142(6), pp. 2184–2193. doi:10.1210/endo.142.6.8223.

Sacristán, A.G. (1998) *Fisiología Veterinaria*. McGraw-Hill Interamericana Editores, S.A. de C.V.

Sechin, A. *et al.* (1999) 'Effect of equine chorionic gonadotropin on weaning-to-first service interval and litter size of female swine', *Theriogenology*, 51(6), pp. 1175–1182. doi:10.1016/s0093-691x(99)80020-x.

Senger, P.L. (2012) *Pathways to pregnancy & parturition*.

Soede, N. and Kemp, B. (1997) 'Expression of oestrus and timing of ovulation in pigs.', *Journal of Reproduction and fertility. Supplement*, 52, pp. 91–103. Available at: <https://europepmc.org/article/med/9602722> (Accessed: 24 May 2021).

Soede, N.M. *et al.* (2001) 'Effects of injection of hcg during the estrous cycle on follicle development and the inter-estrous interval', *Theriogenology*, 55(4), pp. 901–909. doi:10.1016/s0093-691x(01)00452-6.

Solorio, J. *et al.* (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.', pp. 219–235. Available at: <chrome-extension://oemmndcbldboiebfnladdacbfdmadadm/https://www.medigraphic.com/pdfs/vetmex/vm-2002/vm023b.pdf>.

Stančić, I.B. *et al.* (2012) 'Ovarian reaction and estrus manifestation in delayed puberty gilts after treatment with equine chorionic gonadotropin', *Reproductive Biology and Endocrinology*, 10(1), p. 61. doi:10.1186/1477-7827-10-61.

Thibault, C., Szöllösi, D. and Gérard, M. (1987) 'Mammalian oocyte

maturation', *Reproduction, Nutrition, Developpement*, 27(5), pp. 865–896. doi:10.1051/rnd:19870701.

Trujillo, M. (2002) 'Aspectos básicos de la morfología de la cerda', in *La piara reproductora*. 1era edn. México: Mundi-Prensa, pp. 71-80,113, 245.

Trujillo, M.E. (2004) 'Uso de hormonas exógenas en la producción porcina', in. *AMVEC*, pp. 135–149.

Tummaruk, P. (2003) 'THE DETECTION OF OESTRUS: A KEY ROLE IN ENHANCING MATING EFFICIENCY IN PIGS', *The Thai Journal of Veterinary Medicine*, 33(3), pp. 35–42. Available at: <https://he01.tci-thaijo.org/index.php/tjvm/article/view/37654> (Accessed: 25 May 2021).

Valencia, J. (2018) 'Pubertad y estacionalidad reproductiva', in *Fisiología reproductiva de los animales domésticos*,. primera. Mexico: FMVZ, UNAM, pp. 93-101. Available at: [https://fmvz.unam.mx/fmvz/publicaciones/archivos/Fisiologia\\_Reproductiva\\_p\\_reliminares.pdf](https://fmvz.unam.mx/fmvz/publicaciones/archivos/Fisiologia_Reproductiva_p_reliminares.pdf).

Vargas, A.J. *et al.* (2006) 'Time of ovulation and reproductive performance over three parities after treatment of primiparous sows with PG600', *Theriogenology*, 66(8), pp. 2017–2023. doi:10.1016/j.theriogenology.2006.04.045.

Vega, M. (2020) *La cerda reproductora ideal para la producción porcina futura, Razas Porcinas - Cría y Producción Porcina y de Carne*. Available at: <https://razasporcinas.com/la-cerda-reproductora-ideal-para-la-produccion-porcina-futura/> (Accessed: 20 May 2021).

Velázquez, N. (2014) 'La hormona gonadotrofina coriónica humana: Una molécula ubicua y versátil. Parte I', *Revista de Obstetricia y Ginecología de*

*Venezuela*, 74(2), pp. 122–133. Available at: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0048-77322014000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0048-77322014000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=es) (Accessed: 12 May 2022).

Wang, C. *et al.* (2009) 'Reducing CYP51 inhibits follicle-stimulating hormone induced resumption of mouse oocyte meiosis in vitro', *Journal of Lipid Research*, 50(11), pp. 2164–2172. doi:10.1194/jlr.M800533-JLR200.

Wayne Rasband (no date) *ImageJ* [Java 1.7.0-40 (32-BIT)]. USA: Nacinal Institutes of Health. Available at: <http://imagej.nih.gov/ij>.

Williams, S.I., Fernandez, V.C. and Sota, R.L.D.L. (2010) 'Dinamica folicular y momento de la ovulación en cerdas púberes y pluríparas posdestete', *InVet*, 12(1), pp. 33–42. Available at: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179115622005> (Accessed: 23 July

2019).

Williams, S.I. and de la Sota, R.L. (2017) 'Follicular dynamics and ovulation time in gilts and post-weaning sows', *The Canadian Veterinary Journal*, 58(1), pp. 65–69. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5157740/> (Accessed: 27 September 2019).

Yang, J. *et al.* (2008) 'An Antisense Oligodeoxynucleotide to the LH Receptor Attenuates FSH-induced Oocyte Maturation in Mice', *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 21. doi:10.5713/ajas.2008.70534.

Zabala, G. (2005) *INDUCCIÓN DEL CELO CON GONADOTROPINA SERICA Y CORIONICA CON LA APLICACIÓN DE INSEMINACION ARTIFICIAL Y MONTA NATURAL EN CERDAS*. FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS ESCUELA DE INGENIERIA ZOOTECNICA.

Zarco, L. (2018) 'Manipulación del ciclo estral', in *Fisiología reproductiva de los animales domésticos*. 1er edn. México: Universidad Autónoma de México.

Ziecik, A.J. *et al.* (2021) 'Endocrine and molecular milieus of ovarian follicles are diversely affected by human chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone in prepubertal and mature gilts', *Scientific Reports*, 11(1), p. 13465. doi:10.1038/s41598-021-91434-6.

## 11.Lista de cuadros

Cuadro 1 Datos de 2008 -Primer trimestre a 2020 -segundo trimestre (12 AÑOS), México.....	5
Cuadro 2 Características de los órganos reproductores de la cerda.....	9
Cuadro 3 Porcentaje de estros en cerdas prepúberes en respuesta a la inyección con PG600 .....	33
Cuadro 4 Clasificación de las estructuras .....	40
Cuadro 5 Estructuras ováricas encontradas en cerdas nulíparas durante la etapa de proestro en Grupo 1, control (n = 10) y Grupo 2, con eCG+hCG (n = 10).....	43
Cuadro 6 Estructuras ováricas encontradas en cerdas nulíparas durante la etapa de estro en Grupo 3, control (n = 10) y Grupo 4 con eCG+hCG (n = 10).....	43
Cuadro 7 Radio (mm), Diámetro (mm) y Área (mm), de las estructuras ováricas encontradas en cerdas nulíparas durante la etapa de Proestro en Grupo 1 control (n = 10) y Grupo 2 eCG+hCG (n = 10).....	44
Tabla 8 Radio (mm), Diámetro (mm) y Área (mm) de las estructuras ováricas encontradas en cerdas nulíparas durante la etapa de Proestro en Grupo 3 control (n = 10) y Grupo 4 eCG+hCG (n = 10).....	45

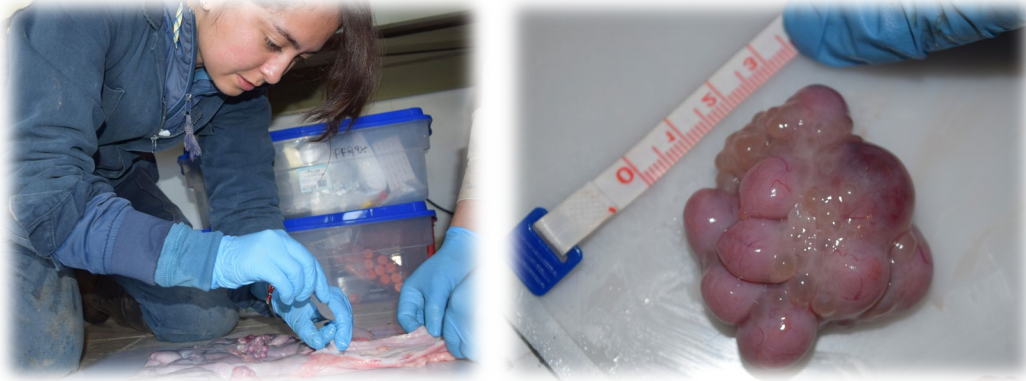
## 12. Lista de imágenes

Imagen 1 Fotografía y esquema del aparato reproductor de la cerda (Adaptado de Falceto, 2015). .....	9
Imagen 2 Microfotografía de folículos primordiales 10x, teñidas con HE. (Calles, 2019).....	12
Imagen 3 Concentraciones hormonales en sangre durante el ciclo estral de la cerda (adaptado de Laing et al., 1991).....	16
Imagen 4 Esquema ciclo reproductivo y dinámica folicular y lútea de la cerda (adaptado de Hafez, 1987; Mc Donald, 1991).....	19
Imagen 5 Estructuras ováricas. (adaptado de Andrés Santos, 2013). .....	20
Imagen 6 Hormonas reproductivas (falceto, 2015).....	23
Imagen 7 Dinámica folicular y lútea. (falceto, 2015).....	25
Imagen 8 División de las cerdas por grupo. ....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Imagen 9 Adaptación uso de hormonas exógenas (Carrera, et al, 2019) .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Imagen 10 Flujograma de actividades. (Calles M., 2021). .....	39
Imagen 11 Proestro: Grupo 1. Control , Grupo 2, tratados con eCG+hCG : Estro: Grupo 3, control y Grupo 4, tratados con eCG+hCG.....	42

## 13. Anexo 1

### Obtención de la muestra

Una vez identificada la muestra, se extrajo del organismo con el menor daño posible. Los tejidos vivos son muy frágiles y la morfología se altera cuando se hace un manejo inapropiado. La mayor parte de las células y los tejidos empiezan a degenerar tan pronto como son separados de su microambiente. Estos cambios autolíticos pueden ser minimizados, al reducir el tiempo en que el tejido esté expuesto al ambiente.



## Fijación

En la fijación química se aplicaron diferentes agentes con la función de detener la vida de las células e impedir las modificaciones postmortem que pueda sufrir la célula (procesos autolíticos), manteniendo la estructura morfológica de células y tejidos sin que ocurran cambios notables en ellos. Esta acción garantiza la integridad de las células y tejidos; se efectúa por mediante agentes químicos denominados fijadores. El fijador usado en este caso fue el formaldehído.

Una sustancia fijadora para que ejerza de manera eficiente y adecuada sus funciones debe poseer las siguientes condiciones:

- Impedir la aparición de los procesos autolíticos.
- Producir cierta dureza a los tejidos sin que se provoque excesiva retracción o hacerlos quebradizos y friables.
- Debe de ser de fácil manipulación.
- No debe disolver componentes celulares
- Proteger la muestra de agentes bacterianos.
- Que sea fácil de conseguir y que sea barato.



Una vez recolectada la muestra de tejido, se colocó de inmediato en el fijador, y se cuidó el tamaño de la muestra para que se cubriera completamente. El tiempo requerido para la fijación completa con formaldehído suele realizarse en 24 horas.

### **Técnica de inclusión en parafina**

Los tejidos fijados adquieren cierta consistencia y dureza, pero no la suficiente para que, de ellos, se obtengan secciones delgadas. Estas secciones, que deben medir milésimas de milímetro (3 a 10  $\mu\text{m}$ ), se conseguirán cuando los tejidos se infiltren con sustancias denominadas “de inclusión” y adquieran tal dureza que sometidos al filo de una navaja produzcan secciones, cortes o láminas sumamente delgados y transparentes. Las sustancias de inclusión tienen la propiedad de incorporarse e infiltrarse al interior de las células y tejidos con la finalidad de servirles de soporte. Así los tejidos y la sustancia de inclusión forman un bloque homogéneo en dureza y consistencia, a pesar de que sus componentes tuvieron originalmente distinta dureza. Existen una serie de sustancias de inclusión que se han empleado o se utilizan actualmente. Unas son solubles en agua (gelatina, carbowax, glicol metacrilato) y otras, solubles en solventes orgánicos (parafina, celoidina, resinas epóxicas).

Cualquiera que sea el medio de inclusión a emplear es condición indispensable que la muestra a incluir se encuentra embebida en la sustancia que disuelve al medio de inclusión de las muestras, éstas se encuentran embebidas en agua o en alcohol, por lo que resulta imposible que se infiltren con parafina, medio de inclusión insoluble en agua y alcohol. Por lo tanto, para que los tejidos puedan ser

incluidos en parafina se requiere deshidratarlos e infiltrarlos con el solvente de la sustancia de inclusión. Los pasos a seguir para la inclusión de las muestras en parafina fueron:

Deshidratación, impregnación en el solvente (a este paso también se le denomina aclaración o diafanización), inclusión y formación del bloque de parafina.

### **Deshidratación**

Significa extraer o remover el agua de los tejidos fijados. La deshidratación debe ser completa porque, de lo contrario, el solvente no actúa de forma adecuada y el bloque de inclusión no alcanza la dureza requerida. Para tal fin se utilizan líquidos deshidratadores en los cuales se sumergen los tejidos. Los deshidratadores más usados son el alcohol etílico, el alcohol isopropílico, el dioxano y el cloroformo.

Las muestras de ovarios incluidas en parafina, se deshidrataron en baños sucesivos en soluciones de concentración crecientes de alcohol etílico hasta la deshidratación total con alcohol etílico absoluto.

### **Diafanización.**

Las muestras deshidratadas se encuentran totalmente embebidas en alcohol etílico absoluto; pero la parafina tampoco es soluble en alcohol por lo que es necesario reemplazarlo por sustancias que sean capaces, simultáneamente, de mezclarse con el alcohol y disolver la parafina. Estas se denominan líquidos diafanizadores o intermediarios. Ejemplos: xilol, tolueno, benceno, y el cloroformo. El líquido diafanizador de uso más frecuente es el xilol. La diafanización de los

tejidos deshidratados se debe a que estas sustancias poseen un alto índice de refracción y al interactuar con los tejidos los vuelven transparentes.

### **Inclusión y formación del bloque de parafina.**

Las parafinas son hidrocarburos saturados provenientes de la destilación del petróleo. Generalmente son sustancias sólidas a temperatura ambiente. Existen diferentes tipos de parafina que se caracterizan por sus puntos de fusión. Estos oscilan entre 40° y 60° C.

La penetración de la parafina al interior de los tejidos se efectúa cuando ésta se encuentra en estado líquido. La parafina reemplazará el xilol de las muestras y se infiltrará al interior de estas. Se contendrá a las muestras “bloques” de parafina. El tiempo que permanezcan las muestras dentro de los recipientes de parafina dependerá de la naturaleza del tejido y el tamaño de las muestras (Hiatt J, 2002; Montero, 2015; Arenas, no date).

El bloque de parafina contenía la muestra correctamente orientada para facilitar la obtención de las secciones o “cortes”. El molde se llenó con parafina caliente pura; con una pinza calentada en un mechero se tomó una pieza de tejido y se sumergió al interior del molde, en el que la parafina se comenzaba a solidificar y se le aplicó una leve presión. Después se llenaron los moldes y se dejaron enfriar para que la parafina se solidificara de manera homogénea.



## Microtomía

Cuando la parafina estaba dura, se sacaron los bloques del molde y se recortaron para exponer el tejido embebido. Se montaron en el micrótopo donde se obtuvieron rebanadas finas de la muestra; las bandas obtenidas se hicieron flotar en agua tibia, lo que ejercía un efecto de planchado para ser extendidos en un portaobjetos; estos se colocaron en una plancha tibia para que el corte se adhiriera mejor al cristal. Las secciones tenían 5 a 7  $\mu\text{m}$  de espesor.



## Tinción

El procedimiento de coloración o tinción consiste en que una estructura celular o tisular adquiere específicamente un color bajo la acción de una sustancia colorante. Se considera que una estructura se ha coloreado o teñido cuando al ser lavada con el líquido que disuelve al colorante, no se decolora. El proporcionar color a las estructuras que constituyen un tejido o un órgano se hace con la finalidad de distinguirlas entre sí y facilitar su observación.

## Tinción de Hematoxilina -Eosina (HE)

La coloración de hematoxilina - eosina se considera como la técnica de tinción de uso más frecuente en el estudio de células y tejidos, a través del microscopio fotónico. Consiste en la tinción de:

Los núcleos mediante una hematoxilina (básico), previamente oxidada se colorean de azul, azul morado, violeta, pardo oscuro o negro, dependiendo de los agentes oxidantes y mordientes que se utilizaron.

- El citoplasma y material extracelular utilizando la eosina (ácido) que les confiere diversos grados de color rosado.



## Montaje

Concluido el proceso de tinción de los cortes, éstos se colocaron en condiciones de protección y para poderlos utilizar infinidad de veces sin que se deterioren.

Este procedimiento consistió en colocar encima del corte coloreado y diafanizado una gota de una sustancia adherente, y encima de ellos, una laminilla cubreobjetos, cuidando que no quedaran burbujas de aire entre la resina.