

01684

2  
2ej

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION

INFERTILIDAD POR ASINCRONIA  
MATERNO-EMBRIONARIA EN OVEJAS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

(Reproduccion Animal)

P R E S E N T A:

MEJIA VILLANUEVA VICENTE OCTAVIO

ASESORES: DR. LUIS ALBERTO ZARCO QUINTERO  
DR. JAVIER DE JESUS VALENCIA MENDEZ

MEXICO, D. F.

1999

271888

TESIS CON  
FALLA DE OR. EN





Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

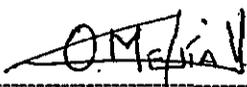
**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## Declaración

El autor da consentimiento a la división de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México para que la tesis esté disponible para cualquier tipo de reproducción e intercambio bibliotecario.

  
-----  
Mejía Villanueva Octavio  
-----

## **Agradecimientos**

**A mi familia toda, en especial a Montserrat y Héctor Mejía.**

A mis maestros a lo largo de estos años Ana María Rosales, Gabriela Flores Foxworth, Javier Olivares, Héctor Castillo, Luis Zarco Quintero, Javier Valencia Méndez, Arturo Trejo y Alberto Balcázar.

A los miembros del Departamento de Reproducción, en especial a Susana Rojas, Clara Murcia, Miriam Boeta, Rosa Páramo y Carlos Esquivel.

A los trabajadores del CEPIER.

A los colegas y ex del CEPIER Rocío Arvizu, Gerardo Ponce, Aldo Alberti, Javier Gutiérrez, Julio Cervantes, Fernando Díaz y Federico Villalbaz.

A los viejos y nuevos amigos Magdalena y Fernando Borderas y sus dos criaturas, Javier Hernández (a) Tyson, Carlos Quiroga e Ismael Gandarilla.

**A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y a su División de Estudios de Posgrado e Investigación, a los programas PAPIIT y PADEP, y a la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la UNAM (por su apoyo académico y económico).**

**A Nuria Becerril y a la Sra. Ma. del Carmen Becerril Cortés.**

A la Dra. María Juana C. (por sus sensatos consejos).

A Milena Koprivitz y a Claudio Ramos Koprivitz.

A Alejandra Arellano y a Rosalinda Aldaz.

# Infertilidad por asincronía materno-embionaria en ovinos

## Indice

	Página
1.- Resumen	1
2.- Introducción	4
3.- Revisión de literatura	
a) Regresión del cuerpo lúteo en los rumiantes	8
b) Comunicación materno-embionaria	11
c) Requerimientos de sincronía útero-embrión	14
d) Líquido folicular e inhibina	16
e) Somatotropina y somatomedinas	20
f) Funciones metabólicas de la somatotropina	23
g) Somatotropina y animales transgénicos	25
4.- Referencias	27
5.- Experimento 1. Efecto del líquido folicular equino y la somatotropina bovina en la sobrevivencia de embriones ovinos transferidos asincrónicamente	40
6.- Experimento 2. Sobrevivencia de embriones ovinos transferidos a receptoras en asincronía	60

## 1.- Resumen

La asincronía materno-embriónica pudiera resolverse incrementando los niveles de progesterona (P4) para promover el desarrollo embrionario, o retrasando la luteólisis. Para tal fin, en el primer experimento se administró somatotropina bovina (ST), líquido folicular equino (LFE) o ambos, a receptoras de embriones en asincronía. Se recolectaron embriones en 25 donadoras el día 6 posestro. Las receptoras se sincronizaron con acetato de fluorogestona y PGF2 $\alpha$ , y en las asincrónicas de todos los grupos se retiró el progestágeno 3.5 días antes que en las donadoras. Se dividieron en cinco tratamientos: sincronía (sin), n=15, asincronía (asin), n=16; asincronía + LFE (asinlfe), n=19; asincronía + ST (asinst), n=7 y asincronía+ LFE + ST (asinlfst), n=10. Las concentraciones de progesterona (3.3 ng/ml) fueron mayores en el grupo asinlfe (P<0.05). Las menores concentraciones (1.4 ng/ml) se presentaron en el asinst.

La fase lútea de mayor duración, 16.8 días promedio, se presentó en las no gestantes del grupo asin. En cuatro ovejas del asinlfe se retrasó la luteólisis hasta el día 19. La fertilidad del grupo sin (86.6 %) no fue diferente a la del asin (68.7 %). Los tratamientos no mejoraron la fertilidad a pesar de incrementarse la P4 en las gestantes asinlfe y asinlfst o retrasarse la luteólisis en las asinlfe. Se propone que antes de modificar la asincronía materno-embriónica se determine el grado de asincronía tolerable de manera natural en los ovinos.

El segundo experimento se realizó para tratar de determinar el número de días de asincronía que toleran los embriones ovinos, así como el papel de la progesterona en su sobrevivencia. Para esto se utilizaron 18 donadoras y 55 receptoras. Las donadoras fueron sincronizadas con acetato de fluorogestona y superovuladas con hormona foliculo estimulante, realizándose la recolección de los embriones por laparotomía el día 6 posestro. Los embriones fueron transferidos laparoscópicamente a receptoras sincronizadas con acetato de fluorogestona y PGF2 $\alpha$ , divididas en tres grupos de acuerdo al día del ciclo estral en que se encontraban: sincrónicas (sin, n=12), día 6 posestro; asincrónicas 3 (asin3, n=21), día 9 posestro; y asincrónicas 4 (asin4, n=19), día 10 posestro. Se transfirieron a cada receptora 2 embriones, mórulas o blastocitos, de excelente calidad provenientes de la misma donadora.

La fertilidad del grupo en sincronía (83.3%) no fue diferente a la del grupo con 3 días de asincronía (57.14%) ( $P>0.05$ ). La menor fertilidad (5.26 %) se obtuvo en el grupo con 4 días de asincronía. Se obtuvieron muestras de sangre de las receptoras durante los días 10 al 21 postestro para determinar las concentraciones plasmáticas de progesterona, siendo éstas mayores en las receptoras asincrónicas comparadas con las sincrónicas ( $P<0.05$ ). La transferencia de embriones recolectados el día 6 a receptoras que se encontraban en el día 9 postestro, provocó un incremento en sus concentraciones de progesterona, que podría estar asociado con la sobrevivencia de los embriones. La asincronía de 4 días originó una alta mortalidad embrionaria a pesar del aumento en las concentraciones de progesterona.

**Palabras clave:** Ovinos, Transferencia embrionaria, Asincronía, Líquido folicular equino, Somatotropina bovina, Progesterona.

## **Abstract**

Maternal-embryonic asynchrony could be overcome by increasing progesterone (P4) levels to improve embryo development or by delaying luteolysis. With this aim in the first experiment, asynchronous recipients were treated with bovine somatotropin (ST) or equine follicular fluid (EFF). Six day embryos were collected from 25 donors. Estrous was synchronized with fluorogestone acetate and PGF2 $\alpha$ . Progestagen was removed in asynchronous recipients 3.5 days before donors. Recipients were allocated to 5 groups: synchronous (syn), n=15; asynchronous (asyn), n=16; asynchronous + EFF (asyneff), n=19; asynchronous + ST (asynst), n=7 and asynchronous + EFF + ST (asynfst), n=10. Progesterone levels were higher (3.3 ng/ml) in asyneff recipients ( $P<0.05$ ), and the lowest levels (1.4 ng/ml) were found in asynst ones. Luteal phase was longer (16.8 days) in the non pregnant ewes of the asyn group. Luteolysis was delayed in 4 ewes of the asyneff until day 19. Pregnancy rate was not different between syn and asyn groups (86.6 vs. 68.7 %). Treatment with EFF and ST did not improve pregnancy rates in asynchronous recipients even when P4 levels were increased in pregnant asyneff and asynfst recipients or when luteolysis was delayed in the asyneff ones.

The second experiment was done in order to try to determine the number of days of asynchrony that the ovine embryos tolerate, as well as the role of progesterone in their survival. For this were used 18 donors and 55 recipients. The donors were synchronized with fluorogestone acetate and were superovulated with follicle stimulant hormone, and the embryos were collected by laparotomy at day 6 postestrous. The embryos were transferred by laparoscopy to recipients synchronized with fluorogestone acetate and PGF2 $\alpha$ , which were allocated to 3 groups according to the day of the estrous cycle in which they were found: synchronous (syn, n=12), day 6 postestrous, asynchronous 3 (asyn3, n=21), day 9 postestrous; and asynchronous 4 (asin4, n=19), day 10 postestrous. Two embryos of excellent quality from the same donor, in the stage of morulae or blastocyst, were transferred to each recipient. The fertility of the group in synchrony (83.3%) was not different from that of group with 3 days of asynchrony (57.14%) ( $P>0.05$ ). The lower fertility (5.26%) was obtained in the group with 4 days of asynchrony. Blood samples of the recipients were obtained during days 10 to 21 postestrous to determine the plasmatic concentrations of progesterone, these being greater in the asynchronous recipients when compared with the synchronous ( $P<0.05$ ) ones. The embryos collected at day 6 that were transferred to recipients that were in day 9 postestrous, provoked an increase in their progesterone concentrations which could be associated with the embryos survival. The 4 days asynchrony originated a high embryonic mortality in spite of the increase in the concentrations of progesterone.

**Key words: Ovine, Embryo transfer, Asynchronous, Equine follicular fluid, Bovine somatotropin, Progesterone.**

# Infertilidad por asincronía materno-embrionaria en ovejas

---

## 2.- Introducción

De acuerdo con investigaciones recientes se ha comprobado que en animales como la oveja y la vaca, entre un 25 y un 40 % de las concepciones terminan con la muerte del embrión, principalmente durante los primeros quince días de la gestación.<sup>1,2</sup> En este periodo clave los embriones que sobrevivan deberán evitar la lisis del cuerpo lúteo y ser reconocidos por la madre para que la gestación continúe.

Los eventos que permiten el reconocimiento de la gestación tienen una relación cronológica muy precisa, ya que el útero de la oveja está programado para establecer alrededor del día 14 ó 15 del ciclo estral un patrón de secreción pulsátil y luteolítico de prostaglandina F2 alfa (PGF2 $\alpha$ ), que origina que los niveles de progesterona de la oveja no gestante disminuyan rápidamente a menos de 0.2 ng/ml.<sup>3</sup> En cambio, para que una gestación temprana pueda mantenerse, es indispensable que el aporte de progesterona por parte del cuerpo lúteo no se interrumpa.<sup>4</sup> A su vez, para que el cuerpo lúteo se mantenga más allá del día 14 postovulación, es necesaria la secreción de sustancias embrionarias que originan el reconocimiento materno de la gestación y evitan la luteólisis.<sup>5</sup>

El factor protector del cuerpo lúteo secretado por el embrión ovino se ha identificado recientemente y es una proteína trofoblástica, denominada anteriormente proteína trofoblástica ovina y actualmente interferón-tau ovino (oIFN- $\tau$ ).<sup>1,6</sup> El oIFN- $\tau$  es el producto de secreción del embrión más abundante entre los días 13 a 21 de la gestación.<sup>1,7</sup>

Como el intervalo entre el momento en que se inicia la liberación luteolítica de PGF2 $\alpha$  por parte del útero y en que el embrión comienza a producir cantidades apreciables de oIFN- $\tau$  es corto, una de las causas más importantes de infertilidad en rumiantes es la regresión prematura del cuerpo lúteo, que impide que el embrión informe de su presencia a la madre.<sup>4,5</sup> Esta asincronía materno-embrionaria puede deberse tanto al adelanto en la liberación de PGF2 $\alpha$ , como a la modificación del desarrollo embrionario temprano.<sup>6,9</sup>

Un modelo para estudiar las relaciones materno-embrionarias puede ser el transferir embriones en asincronía, es decir, embriones recolectados de la donadora en un día del ciclo estral diferente al de la hembra receptora, retándolos a sobrevivir en un ambiente uterino modificado y,<sup>10,11,12,13</sup> evaluar diversos tratamientos diseñados para retrasar la lisis del cuerpo lúteo,<sup>10,11</sup> con la finalidad de dar más tiempo al embrión de señalar su presencia a la madre, o bien tratamientos diseñados para elevar las concentraciones de progesterona y estimular el desarrollo embrionario, con el objeto de permitir que el embrión transferido compense el retraso inicial de su desarrollo.

Así la transferencia embrionaria en asincronía permitirá evaluar en las receptoras de embriones dos opciones: el retraso de la luteólisis mediante la administración de líquido folicular equino y, el incremento de los niveles de progesterona y la modificación del desarrollo embrionario temprano mediante la administración de somatotropina o de líquido folicular equino.

**Retraso de la luteólisis.** En la oveja es común que a la ovulación siga la formación de un cuerpo lúteo de corta duración, esto cuando dicha ovulación no ha sido precedida por un período de exposición a la progesterona proveniente de un ciclo estral anterior.<sup>4,5</sup> Así, se presentan fases lúteas cortas después de la primera ovulación puberal, estacional o postparto.<sup>14,15,16,17,18</sup>

Estudios recientes han demostrado que el cuerpo lúteo de corta duración es intrínsecamente normal,<sup>5,19</sup> y que su corta vida se debe en realidad a una programación inadecuada de la secreción de prostaglandinas uterinas.<sup>20,21,22,23,24</sup> Basándose en esto se ha buscado comprender los mecanismos que regulan el momento en que se inicia la secreción uterina de PGF<sub>2</sub>α y estudiar posibles métodos para retrasar el inicio de dicha secreción.<sup>4,25,26,27</sup>

Algunos de los tratamientos que se han utilizado para este fin son inhibidores de la síntesis de PGF<sub>2</sub>α como el flunixin meglumine, la indometacina, el ácido acetil salicílico o ácido meclofenámico y la hidrocortisona.<sup>10,28-31</sup> Sin embargo, todos ellos tienen la desventaja de inhibir en forma inespecífica la secreción de todos los tipos de prostaglandinas, por lo que tienen efectos indeseables y pueden inclusive interferir con la implantación del embrión.<sup>32</sup> También se ha intentado la aplicación exógena de hormonas como la progesterona, la gonadotropina coriónica humana o la hormona liberadora de las gonadotropinas. Aunque dichas hormonas son capaces de mantener temporalmente elevadas las

concentraciones de progesterona, no evitan la regresión del cuerpo lúteo, por lo que al discontinuarse su uso se produce irremediablemente una caída en las concentraciones de progesterona, que es seguida por la muerte del embrión.<sup>31,33</sup> Se han utilizado las proteínas trofoblásticas ovina o bovina, siendo su uso limitado al no encontrarse disponibles en cantidades apreciables.<sup>34,35</sup> En sustitución a estas proteínas, se han administrado interferones alfa que alargan la vida del cuerpo lúteo; pero al ser pirogénicos y elevar temporalmente la temperatura corporal del animal pueden originar mortalidad embrionaria y disminución de la fertilidad.<sup>36-40</sup>

Alternativamente, se puede intentar tomar ventaja del conocimiento que se tiene sobre el control endócrino de la secreción uterina de PGF2 $\alpha$ , para buscar mecanismos que permitan inhibir específicamente el establecimiento del patrón de secreción luteolítico de esta hormona.

Aunque los mecanismos precisos que regulan la síntesis y secreción de PGF2 $\alpha$  no están completamente claros, se conoce que el estradiol y la oxitocina participan en la generación de los pulsos de PGF2 $\alpha$ .<sup>26</sup> El estradiol proveniente de los folículos presentes durante la segunda mitad de la fase lútea, es indispensable para estimular la síntesis de receptores para oxitocina en el endometrio, lo que desencadena la síntesis de PGF2 $\alpha$  por el útero.<sup>41</sup> El estradiol de origen folicular es indispensable tanto para la aparición inicial de receptores para oxitocina, como para su reaparición después de cada episodio de secreción de PGF2 $\alpha$ ,<sup>41,42</sup> por lo que la inhibición de la secreción de la hormona foliculo estimulante (FSH) al provocar una reducción en la producción de estrógenos ováricos, podría evitar que se iniciara la secreción luteolítica de PGF2 $\alpha$ . Una forma de reducir la secreción de FSH ha sido utilizando líquido folicular bovino, porcino, ovino<sup>43</sup> o equino,<sup>44</sup> libre de esteroides. En anteriores trabajos se ha demostrado que el líquido folicular equino inhibe la secreción de FSH y el desarrollo folicular en ovejas.<sup>45</sup> Esto ha permitido alargar la vida de un cuerpo lúteo destinado a tener corta duración en ovejas en anestro estacional inducidas a ovular con hCG,<sup>46</sup> y ha retrasado la luteólisis en algunas ovejas a las que se les transfieren embriones en asincronía.<sup>11</sup>

***Incremento de los niveles de la progesterona y del desarrollo embrionario temprano.*** Existe evidencia directa que la tasa de desarrollo del embrión ovino puede ser alterada por el ambiente uterino, lo que se ha estudiado mediante la posterior colección de los embriones que son originalmente transferidos en condiciones de asincronía. Así, cuando se transfieren embriones a un útero que está

adelantado uno o dos días con respecto a la edad de los embriones, éstos se desarrollan más rápido que los transferidos a un ambiente sincrónico. En contraste, aquellos embriones adelantados en relación con el útero al que son transferidos, pueden retrasar su ritmo de desarrollo.<sup>47-49</sup>

Cuando se ha tratado de favorecer la sobrevivencia de embriones transferidos en asincronía mediante el retraso de la regresión del cuerpo lúteo, ya sea con la administración de líquido folicular equino<sup>11</sup> o con inhibidores de la síntesis de prostaglandinas,<sup>10</sup> la fertilidad no ha logrado mejorarse de manera significativa. Al parecer, el alargar la fase lútea con el objeto de favorecer el reconocimiento de la gestación no es suficiente para lograr el establecimiento de la gestación de embriones asincrónicos, ya que en la mayoría de las ocasiones los embriones con mayor retraso en su desarrollo sufren un daño irreversible durante los primeros tres días de su permanencia en un útero asincrónico.<sup>47</sup> Esto sugiere que además de retrasar la regresión del cuerpo lúteo, sería necesario estimular el desarrollo embrionario con la finalidad de compensar los efectos de un ambiente uterino inadecuado.

En este sentido, se ha demostrado que la administración de progesterona en ovejas receptoras inmediatamente después de realizar la transferencia embrionaria estimula el desarrollo embrionario,<sup>50-52</sup> y promueve la síntesis de proteínas diferentes a las sintetizadas por los embriones de las receptoras que no reciben progesterona.<sup>53</sup> Geisert *et al*<sup>54</sup> determinaron que la administración de progesterona a hembras receptoras provoca una aceleración del desarrollo embrionario, y en el caso del bovino, la administración de progesterona a hembras que reciben embriones transferidos en asincronía eleva los porcentajes de fertilidad hasta niveles cercanos a los logrados en las hembras en sincronía. En ovinos, los embriones transferidos en asincronía han logrado establecerse en las hembras cuyas concentraciones circulantes de progesterona son superiores al promedio,<sup>11</sup> por lo que es posible que la estimulación de la función del cuerpo lúteo logre mejorar la sobrevivencia embrionaria.

Se ha demostrado también que la administración de somatotropina bovina aumenta las concentraciones de progesterona circulante en hembras subfértiles y provoca un aumento significativo en su fertilidad.<sup>55</sup> Además, se ha encontrado que la somatotropina bovina estimula el desarrollo embrionario en ovejas superovuladas.<sup>56</sup> Estos efectos probablemente se deban a que la somatotropina actúa a nivel uterino provocando la expresión del gen para IGF-I,<sup>55</sup> ya que la administración de IGF-I estimula la actividad de la enzima aromatasa e incrementa la síntesis de esteroides como la progesterona.<sup>57,58</sup>

En recientes experimentos se encontró que a diferencia de la administración de líquido folicular bovino, el líquido folicular equino, en ovejas inducidas a ciclar con hCG o en ovejas ciclando, incrementa los niveles plasmáticos de la progesterona,<sup>11,46</sup> por lo que este efecto al reforzar la función del cuerpo lúteo, puede contribuir al mantenimiento de la gestación en ovejas a las que se les transfieran embriones en asincronía.

### 3.- Revisión de literatura

*a) Regresión del cuerpo lúteo en los rumiantes.* En las ovejas el establecimiento de un patrón de secreción pulsátil de la prostaglandina F<sub>2</sub> α (PGF<sub>2</sub>α) por parte del útero, origina la lisis o regresión del cuerpo lúteo (CL).<sup>59-61</sup> Aunque los mecanismos precisos que regulan la síntesis y secreción de la PGF<sub>2</sub>α no están completamente claros, se conoce que la progesterona (P4) y el estradiol (E2) ováricos, así como la oxitocina (OT) de origen tanto hipofisario como ovárico, tienen un papel sumamente importante en la generación de los pulsos de la PGF<sub>2</sub>α uterina.<sup>4,26,62,63</sup>

La P4 proveniente del CL ejerce dos tipos de efectos que contribuyen a la regulación de la secreción de la PGF<sub>2</sub>α. Por un lado, sensibiliza al útero y lo prepara para su posterior respuesta inicial a la OT, ya que la prolongada exposición a la progesterona durante la fase lútea del ciclo estral, promueve la acumulación de las sustancias precursoras necesarias para la síntesis de la PGF<sub>2</sub>α como son el ácido araquidónico, además de otros ácidos grasos y enzimas como la sintetasa de prostaglandinas.<sup>26,41</sup> Por otro lado, la P4 ejerce un efecto regulador del número, frecuencia y amplitud de los pulsos de secreción de la PGF<sub>2</sub>α, evitando que en el útero aparezcan receptores para estrógenos o causando la destrucción de dichos receptores.<sup>41,63,64</sup>

La P4 regula también la concentración de los receptores endometriales para oxitocina.<sup>64,65</sup> Así, para que el útero pueda responder a la OT secretando PGF<sub>2</sub>α, debe haber estado expuesto a la P4 al menos durante 10-12 días,<sup>62,64,66</sup> ya que después de 10 días de exposición del útero a la P4, esta hormona provoca la destrucción de sus propios receptores en el útero,<sup>41,65</sup> por lo que después del día 12 del ciclo estral normal de las ovejas, la progesterona deja de bloquear la acumulación de receptores para oxitocina y la concentración de éstos se incrementa.<sup>66</sup> Además, debido a la disminución del efecto de la P4 sobre el útero hacia el final de la fase lútea, aparecen en éste receptores para el estradiol ovárico proveniente de

los folículos presentes durante la segunda mitad de la fase lútea.<sup>26</sup> Al contar con sus receptores el estradiol puede actuar y sus pequeños incrementos maximizan la respuesta uterina a la oxitocina, mediante la modulación de la secreción pulsátil de la oxitocina hipofisaria<sup>26</sup> y mediante la estimulación de la síntesis de receptores para oxitocina en el endometrio.<sup>67,68</sup>

El estradiol de origen folicular es indispensable tanto para la aparición inicial de receptores para oxitocina, como para su reaparición después de cada episodio de secreción de la PGF2 $\alpha$ .<sup>41,42</sup> La interacción de la oxitocina con sus receptores es importante en el establecimiento del patrón de secreción pulsátil de la PGF2 $\alpha$ , ya que la oxitocina al ser liberada en forma pulsátil, se encarga de iniciar cada episodio de secreción de la PGF2 $\alpha$  por parte del útero.<sup>26</sup> La oxitocina tanto de origen lúteo como pituitario, interactúa con sus receptores recientemente sintetizados y como consecuencia se desencadena la síntesis de PGF2 $\alpha$  por el útero.<sup>41</sup>

En las ovejas durante la luteólisis, la secreción de P4 por el cuerpo lúteo disminuye como consecuencia de la acción de la PGF2 $\alpha$ , la cual llega del útero al ovario mediante un mecanismo local de transferencia entre la vena uterina a la arteria ovárica.<sup>69,70</sup> Los niveles séricos de la P4 que se encontraban durante la fase lútea por arriba de 1 ng/ml (3-5 ng/ml) disminuyen drásticamente (.025-.03 ng/ml) en un lapso de 24 horas a partir del inicio de la luteólisis.<sup>3,59,71</sup>

Cada pulso de la PGF2 $\alpha$  uterina estimula la liberación de más oxitocina por el cuerpo lúteo<sup>72-74</sup> y dicha oxitocina puede a su vez estimular la secreción de la PGF2 $\alpha$  por el útero, estableciéndose un ciclo de retroalimentación positiva entre estas dos hormonas.<sup>26,41,63</sup> Sin embargo, la oxitocina de origen lúteo origina una pasajera refractariedad del útero a la subsiguiente estimulación con oxitocina, mediante la autodestrucción de sus propios receptores.<sup>41</sup> Una desensibilización similar ocurre en el cuerpo lúteo en respuesta a la PGF2 $\alpha$ .<sup>26</sup> Tanto la recuperación de la capacidad del CL para responder a la PGF2 $\alpha$  como la recuperación de los receptores uterinos para la oxitocina tardan alrededor de 6 horas, por lo que la PGF2 $\alpha$  que se secreta en respuesta a la oxitocina será liberada en forma de pulsos con esta misma frecuencia.<sup>26,41</sup> Durante la regresión natural del CL es importante que se establezca la secreción pulsátil de PGF2 $\alpha$ , ya que se requieren 4 a 6 pulsos secretados con intervalos de 5 a 6 horas entre pulso y pulso para que la luteólisis se complete y sea irreversible.<sup>3,59</sup> La frecuencia con que se secretan dichos pulsos es muy importante, ya que si los intervalos entre ellos se alargan, la regresión del cuerpo lúteo puede

fallar a pesar de haberse secretado grandes cantidades de PGF2 $\alpha$ .<sup>3</sup> Igualmente, la secreción de grandes cantidades de PGF2 $\alpha$  en forma continua en lugar de pulsátil, como ocurre en las ovejas gestantes tampoco resulta en luteólisis.<sup>75</sup>

El que la luteólisis sea funcional implica que existan primero cambios bioquímicos en el cuerpo lúteo como la disminución brusca de la secreción de P4, los cuales pueden estar separados de los cambios estructurales posteriores que sufre el cuerpo lúteo.<sup>76</sup> Dichos cambios estructurales originan la destrucción y pérdida de las células que constituyen al cuerpo lúteo, primero de las células pequeñas y posteriormente de las células grandes, y por tanto la disminución de su peso.<sup>77,78</sup> Los cambios morfológicos que ocurren durante la regresión del cuerpo lúteo incluyen la acumulación de gotas de lípidos en el citoplasma de las células lúteas, la degeneración de los capilares y un incremento en el número de los lisosomas. Conforme la regresión lútea continúa, existe un eventual decremento en el número de las células lúteas y de su producción de esteroides.<sup>61</sup>

**Luteólisis prematura.** Una de las causas de infertilidad en rumiantes es la regresión del cuerpo lúteo antes de que el embrión haya tenido tiempo de informar de su presencia a la madre.<sup>4,5</sup> Esto puede deberse a un retraso en el desarrollo embrionario,<sup>8,9</sup> o más comúnmente a un adelanto en la liberación de prostaglandina F2 $\alpha$ .<sup>5</sup> En la oveja es común que la ovulación sea seguida por la formación de un cuerpo lúteo de corta duración cuando dicha ovulación no ha sido precedida por un período de exposición a progesterona proveniente de un ciclo estral anterior.<sup>4,5</sup> Así, se presentan fases lúteas cortas después de la primera ovulación puberal,<sup>17,18</sup> estacional,<sup>14,15</sup> o postparto,<sup>16</sup> por lo que dichas ovulaciones generalmente son infértiles. También se ha demostrado que la inducción de ovulación utilizando gonadotropina coriónica Humana (hCG) o con la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) en animales anéstricos, induce en forma repetible la formación de cuerpos lúteos de corta duración,<sup>20,79-83</sup> por lo que este tratamiento se ha utilizado como un modelo para el estudio de esta deficiencia lútea y su posible prevención.<sup>4,5</sup>

Evidencias recientes han demostrado que el cuerpo lúteo de corta duración es intrínsecamente normal<sup>4,5</sup> y que su corta vida se debe en realidad a una programación inadecuada de la secreción de prostaglandinas uterinas.<sup>20-24</sup>

**b) Comunicación materno-embriónica.** El reconocimiento materno de la gestación es el intercambio de señales que establecen el útero materno y el embrión, que permite alargar la vida del cuerpo lúteo, previniendo el retorno a la ciclicidad ovárica.<sup>6,84</sup>

Existen una serie de señales iniciales que se establecen entre el embrión y el útero entre las que se encuentran el Factor Temprano de la Gestación (EPF), el cual se ha detectado entre las 6 a 24 horas después de la inseminación o monta y es una glicoproteína inmunosupresora específica de la preñez y su producción es inducida por el Factor Activador de Plaquetas (PAF).<sup>85</sup> Existe también un factor asociado a la presencia del embrión que induce en el sistema materno de algunas especies una trombocitopenia pasajera que ocurre durante las primeras 24 horas posteriores a la fertilización. Aunque este factor no se ha purificado, sus características bioquímicas y fisiológicas son análogas al Factor Activador de Plaquetas (PAF). La evidencia reciente sugiere que el PAF tiene una función autocrina en la gestación temprana.<sup>32,85</sup>

Hay factores de crecimiento como el Factor de Crecimiento Transformador (TGF), el Factor de Crecimiento Parecido a la Insulina (IGF) y el Factor de Crecimiento Epidermal (EGF) que intervienen en el crecimiento y desarrollo de los embriones antes de su implantación y posteriormente son mediadores de la decidualización e implantación embrionaria.<sup>32</sup> Estos factores de crecimiento además de participar en el metabolismo del embrión contribuyen a la síntesis de proteínas embrionarias y estimulan el crecimiento y la diferenciación de las células uterinas.<sup>32</sup> También los oviductos de la oveja y vaca secretan factores que tienen una importante actividad mitogénica sinérgica con la insulina y por tanto, con los IGF.<sup>32</sup>

Aunque esta comunicación inicial entre el útero y el embrión es importante, los eventos posteriores de reconocimiento de la gestación, en donde se encuentran involucradas las proteínas trofoblásticas producidas por los rumiantes, son los que determinan finalmente la viabilidad o muerte del embrión.

**Reconocimiento de la gestación en la oveja.** El reconocimiento materno de la gestación en la oveja ocurre alrededor de los días 12 a 13 del ciclo estral.<sup>86,87</sup> En ovejas no gestantes, alrededor de los días 12 a 15 del ciclo estral ocurre la destrucción del cuerpo lúteo.<sup>88</sup> mediante la liberación pulsátil de PGF2 $\alpha$ , la cual origina un decremento brusco de los niveles basales de P4 a menos de 0.2 ng/ml.<sup>3,59</sup> Para que la gestación pueda mantenerse debe evitarse dicha liberación pulsátil de PGF2 $\alpha$ ,<sup>89,9</sup> ya que es indispensable que continúe el aporte adecuado de P4 por parte del cuerpo lúteo.<sup>90</sup> La producción de

PGF2 $\alpha$  se incrementa tanto en las ovejas gestantes como en las no gestantes, hasta alcanzar un pico alrededor del día 14 o 15, para posteriormente decrecer. Sin embargo, el patrón de secreción es diferente, ya que en las ovejas no gestantes la secreción es pulsátil, mientras que en las ovejas gestantes hay una elevación constante de la secreción basal de PGF2 $\alpha$ , pero sin pulsos marcados.<sup>59</sup>

En la oveja, se requiere la secreción de sustancias embrionarias para que ocurra el reconocimiento materno de la gestación y el CL se mantenga más allá del día 14 postovulación, mediante tres mecanismos principales: la atenuación de la liberación pulsátil de la PGF2 $\alpha$  por el útero, la reducción de la actividad luteolítica de la PGF2 $\alpha$  sobre el cuerpo lúteo y el incremento en la secreción de PGE2 por parte del útero gestante.<sup>81,91,92</sup>

Recientemente se ha aislado e identificado el factor antiluteolítico secretado por el embrión, el cual es una proteína trofoblástica, denominada anteriormente como proteína X, antiluteolisina trofoblástica, trofoblastina, proteína trofoblástica ovina-1 (oTP-1) y actualmente interferón-tau ovino (oIFN- $\tau$ ).<sup>1,6,87,90,93-95</sup> Se han aislado proteínas trofoblásticas en las ovejas, las cabras y las vacas teniendo gran homología entre ellas.<sup>96-98</sup> El oIFN- $\tau$  es el producto de secreción del embrión (y sus membranas extraembrionarias) más abundante entre los días 12 a 21 de la gestación. Aunque ya los embriones de 8 días de edad producen oIFN- $\tau$  en cantidades apreciables.<sup>99</sup> El oIFN- $\tau$  es producido por el epitelio del trofoblasto (trofoectodermo) y absorbido por las células epiteliales de la superficie del lumen uterino (células carunculares e intercarunculares) y por el epitelio de las glándulas uterinas superiores.<sup>8,93,94,100,101</sup>

El incremento en la producción de oIFN- $\tau$  coincide con la transformación morfológica del embrión y con su crecimiento, ya que entre el día 4 y 10 el embrión mantiene una forma esférica y tiene un diámetro de tan sólo 0.4 a 1.4 mm, transformándose después a una forma tubular y posteriormente filamentosa, llegando el trofoblasto a medir entre 140 a 190 mm en el día 15 de la gestación.<sup>6,8,84,97</sup> Existe un segundo periodo de producción del oIFN- $\tau$  por el corion fetal (cuyo origen es el trofoblasto embrionario) entre los días 25 a 45 de la gestación.<sup>97</sup> Aparentemente el oIFN- $\tau$  no es secretado al torrente sanguíneo materno y sus receptores se encuentran en el endometrio uterino,<sup>90,100</sup> lo que sugiere una acción local. En este sentido, la infusión intrauterina tanto de oIFN- $\tau$  puro como de oIFN- $\tau$  recombinante, prolonga la vida del cuerpo lúteo cuando es administrada a partir del día 10-12 del ciclo estral.<sup>94,95,101</sup> Para alargar la vida del cuerpo lúteo en ovejas también se han administrado en conjunto las proteínas secretadas por el embrión

o bien interferones bovinos recombinantes, alrededor de los días en que ocurre el reconocimiento materno de la gestación<sup>101-103</sup>

La estructura primaria del oIFN- $\tau$  es similar en un 40 a 55 % a la de los interferones alfa clase I, y en un 70 % idéntica al interferón bovino alfa clase II, ya que tiene el mismo número de aminoácidos (172) y una secuencia parecida.<sup>6,87,104</sup> Las secuencias de DNA del oIFN- $\tau$  y el bIFN- $\tau$  son idénticos en un 85 %.<sup>1</sup> Al ser el oIFN- $\tau$  un interferón alfa presenta propiedades antivirales, siendo también regulador de la respuesta inmune materna y de la diferenciación celular.<sup>1,6,90,104</sup>

La función principal del oIFN- $\tau$  es la de evitar el establecimiento del patrón de secreción luteolítico (pulsátil) de la PGF $2\alpha$  mediante el bloqueo directo de la síntesis de receptores para oxitocina,<sup>98</sup> o mediante la inhibición de la expresión de estos receptores o de su reciclamiento,<sup>66</sup> ya que en apariencia no afecta las concentraciones de los receptores a oxitocina ya sintetizados,<sup>90,105</sup> ni compete con la oxitocina por los mismos receptores endometriales.<sup>97,106</sup> Cualquiera de estos mecanismos origina que finalmente la oxitocina no pueda activar a la enzima sintetasa de prostaglandina.<sup>107</sup> El oIFN- $\tau$  puede bloquear también la síntesis de receptores para estrógenos o inhibir los efectos de los estrógenos y/o progesterona necesarios para la síntesis endometrial de receptores para oxitocina o inhibir directamente a la sintetasa de prostaglandina.<sup>97</sup> Es probable que el oIFN- $\tau$  induzca al endometrio a sintetizar un inhibidor de las enzimas (o de alguna enzima en particular) necesarias para la síntesis de la PGF $2\alpha$  como la fosfolipasa A2 o la cicloendoperoxidasa.<sup>84,97</sup>

En vacas se ha sugerido que la atenuación de la secreción de PGF $2\alpha$  uterina durante la preñez temprana, es debida a la acción de un inhibidor proteínico intracelular denominado Inhibidor Endometrial de la Sintetasa de Prostaglandina (EPSI), que no es competitivo con respecto al ácido araquidónico. La formación del EPSI es inducida por el bIFN- $\tau$  a y parece ser que su mecanismo principal de acción es inhibiendo a la enzima ciclooxigenasa, fundamental en la síntesis de PGF $2\alpha$ .<sup>36</sup>

Se ha demostrado también que la administración de interferones alfa reduce las concentraciones de ácidos grasos insaturados en los fosfolípidos de las membranas, lo que sugiere que un efecto similar puede estar involucrado en el mecanismo de acción del oIFN- $\tau$ .<sup>90</sup>

Además del oIFN- $\tau$ , se han aislado otras proteínas producidas por el embrión ovino cuya función es la de proteger al cuerpo lúteo bloqueando la acción de la PGF2 $\alpha$  (luteoprotectoras), sin embargo, hasta el momento no han sido descritas detalladamente.<sup>92</sup>

Como un mecanismo adicional para lograr el reconocimiento materno de la gestación, algunos investigadores indican que la prostaglandina E2 (PGE2), que es producida por el útero gestante inhibe la acción de la PGF2 $\alpha$  sobre el cuerpo lúteo, ya que la administración de PGE2 alarga la vida del cuerpo lúteo en ovejas, vacas y primates.<sup>61,91,108</sup> Aunque no se conoce el mecanismo de acción de las sustancias luteoprotectoras durante el reconocimiento materno de la gestación, se sabe que no es mediante la reducción del número de receptores a la PGF2 $\alpha$  o por el aumento en los receptores a la PGE2.<sup>92</sup>

**c) Requerimientos de sincronía útero-embrión.** Durante el establecimiento de la gestación se produce un complejo diálogo entre el embrión y el útero materno. Para ser exitoso este diálogo se requiere que las señales mantengan una relación cronológica precisa, por lo que cualquier retraso o adelanto importante en el desarrollo embrionario o en el ambiente uterino materno, puede originar deficiencias en el reconocimiento de la preñez. Por esta razón, la mayor sobrevivencia de los embriones que son transferidos se obtiene cuando tanto la donadora de los embriones como la receptora se encuentran en el mismo día del ciclo estral, es decir, cuando las receptoras presentan estro no más de 12 horas antes o 12 horas después que la donadora.<sup>12,13,49,109,110</sup> Al inicio de la gestación las proteínas secretadas por el embrión, junto con las prostaglandinas y los esteroides ováricos, principalmente la progesterona, actúan coordinadamente para modificar la bioquímica y la morfología uterina, por lo que una relación inadecuada entre estos factores o una asincronía en su secreción puede originar la muerte del embrión.<sup>34,111,112</sup>

En la oveja se ha determinado que en aquellas gestaciones en las que ocurre muerte embrionaria, los perfiles plasmáticos de la progesterona durante las dos primeras semanas después de la monta o inseminación se encuentran alterados. En cambio, mientras más elevadas están las concentraciones de progesterona en dicho periodo será más probable el establecimiento exitoso de la gestación.<sup>13,34</sup>

Es posible que existan varias causas de retraso en el desarrollo embrionario. Una de las más importantes en rumiantes es el estrés calórico, que resulta en alteraciones en el medio ambiente uterino que de alguna manera inhiben el desarrollo embrionario y retrasan la secreción de las proteínas trofoblásticas responsables del reconocimiento de la gestación.<sup>9</sup>

El retraso relativo del desarrollo del embrión en relación al estado uterino, resulta en mortalidad embrionaria cuando se realizan transferencias de embriones en los que la donadora y la receptora no se encuentran en el mismo día del ciclo estral.<sup>34,112</sup>

En la oveja existe evidencia directa de que el ritmo de desarrollo del embrión puede ser alterado por el ambiente uterino. Estos efectos se han estudiado mediante la colección de embriones que previamente han sido transferidos en asincronía, en donde se ha determinado claramente que aquellos embriones con un retraso relativo en su crecimiento, por haber sido transferidos a un ambiente uterino adelantado, se desarrollan más rápido que aquellos transferidos a un ambiente sincrónico. En contraste, los embriones adelantados en relación con el útero al que son transferidos, pueden retrasar su desarrollo.<sup>47-49</sup> Sin embargo, los embriones demasiado asincrónicos en relación con el ciclo de la receptora, no son capaces de compensar un ambiente uterino inadecuado, por lo que su crecimiento se vuelve anormal y en su momento no son capaces de inhibir la luteólisis, siendo finalmente expulsados del útero.<sup>13</sup>

Se ha demostrado que la administración temprana de progesterona a las receptoras puede modificar efectivamente el ambiente uterino, permitiendo sobre todo el establecimiento de gestaciones de embriones adelantados en su desarrollo.<sup>54,110,113</sup> Así, en ovejas a las que se les transfiere un embrión con 48 horas de asincronía, la administración temprana de progesterona modifica el ambiente uterino y la secreción de diferentes proteínas embrionarias, pero aparentemente estas proteínas no tienen efecto alguno sobre el desarrollo de los embriones transferidos.<sup>99</sup> En vacas se han obtenido gestaciones de embriones colectados al día 7 y cuyos estadios eran de mórula o blastocito, en transferencias realizadas con una asincronía de entre 2.5 a 7.5 días, mediante la administración de GnRH.<sup>114</sup>

Existen dos posibles explicaciones de la pérdida embrionaria que ocurre cuando la donadora y la receptora no se encuentran en sincronía. Una de ellas sería la modificación irreversible del desarrollo embrionario causada por la exposición a un ambiente uterino inadecuado, ya que el desarrollo del embrión es alterado en el útero de una receptora en asincronía. La otra posibilidad es que el embrión sea incapaz de ejercer su efecto antiluteolítico sobre el cuerpo lúteo de la receptora, con el resultado de que el cuerpo lúteo no es mantenido y la gestación se pierde.<sup>13,109</sup>

d) **Líquido folicular e inhibina.** El líquido folicular contiene diferentes componentes no esteroideos entre los que se incluyen a la inhibina, la folistatina y la activina, así como diferentes inhibidores, como las proteínas ováricas inhibitorias, los inhibidores de la maduración de los ovocitos, los inhibidores de la luteinización y los inhibidores de la unión de la FSH a su receptor.<sup>115-121</sup>

Hasta el momento, se han caracterizado más ampliamente la inhibina, la activina y la folistatina. En la hembra de especies como ovinos, bovinos, equinos, porcinos, primates y roedores, la inhibina está presente en altas concentraciones en el líquido folicular, lo que sugiere que son los folículos su fuente principal. Recientemente se ha demostrado que las células de la granulosa de los folículos antrales son las que producen la inhibina,<sup>122-125</sup> cuando son estimuladas por la hormona foliculo estimulante (FSH) mediante el mecanismo del adenosin 3', 5'-monofosfato cíclico (AMPC).<sup>123-124</sup>

Aunque en humanos y en primates no humanos se ha demostrado que también el cuerpo lúteo produce inhibina, al ser estimulado por la hormona luteinizante (LH),<sup>126-129</sup> en las ovejas no se ha encontrado la expresión de RNAm para la subunidad alfa en células lúteas, lo que indica que las células que principalmente producen inhibina son las de la granulosa.<sup>123,130</sup>

En el macho de diferentes especies domésticas, así como en roedores y humanos, la inhibina es producida *in vivo* por las células de Sertoli y su producción controlada por la FSH.<sup>123,131-133</sup> *In vitro* las células de Leydig de ratas adultas también producen inhibina.<sup>134</sup>

En la oveja tanto la FSH como la LH son necesarias para el desarrollo de folículos antrales grandes. La secreción de FSH está controlada por un mecanismo de retroalimentación negativa que ejercen dos hormonas ováricas, la inhibina y el estradiol.<sup>135-139</sup> La FSH estimula el crecimiento, la mitosis y la completa diferenciación de las células de la granulosa de los folículos preovulatorios grandes, para que adquieran receptores para LH, alcancen su máxima actividad aromatizante y produzcan cantidades importantes de inhibina.<sup>130,140,141</sup> Cerca del 90% del estradiol secretado por los ovarios se deriva de estos folículos estimulados con FSH.<sup>130,142</sup>

La inhibina es secretada principalmente por los folículos antrales grandes, sin importar que todavía no adquieran su máxima capacidad aromatizante o que ya la hayan perdido.<sup>130,131</sup> *In vitro*, se ha demostrado que el 55 % de la producción total de inhibina se debe a los folículos esteroideogénicos grandes. Sin embargo, los folículos grandes no esteroideogénicos y los folículos pequeños contribuyen con el 33 % y el 12 % de la producción de inhibina, respectivamente.<sup>142</sup>

La secreción de estradiol por los folículos preovulatorios depende de la existencia de precursores de andrógenos producidos por las células de la teca estimuladas por la LH. Al disminuir los niveles de progesterona al final de la fase lútea, el incremento en la secreción de LH estimula el progresivo incremento de la secreción de estradiol que ocurre durante la fase folicular.<sup>130</sup> En esta etapa del ciclo estral existe un ligero e inconsistente incremento en la producción de inhibina relacionado con el aumento en el número de los folículos antrales grandes.<sup>130</sup> Esto sugiere que la retroalimentación negativa sobre la FSH está controlada globalmente por la inhibina, al igual que el número total de los folículos antrales grandes presentes en los ovarios; mientras que el estradiol influye en gran medida sobre las fluctuaciones diarias de las concentraciones de FSH (que a su vez determinan el número de folículos ovulatorios), y sobre el número de aquellos folículos destinados a ovular.<sup>130,143,193</sup>

La inhibina suprime específicamente la producción y la secreción hipofisaria de la FSH, ya que la administración *in vivo* de sustancias que tienen actividad de inhibina disminuye la producción de RNAm para la subunidad beta de la FSH en la pituitaria y por tanto causa también el decremento de las concentraciones circulantes de FSH.<sup>119,144</sup> La inhibina es una hormona glicoproteica formada por dos subunidades diferentes unidas por disulfuro, denominadas alfa y beta<sup>145</sup> y al igual que otras hormonas su secreción es pulsátil (durante la fase folicular los pulsos de inhibina ocurren cada  $66 \pm 5$  min.), y sus pulsos coinciden con los pulsos de androstenediona que siguen a los pulsos de LH.<sup>144,146</sup>

Se han aislado y caracterizado dos formas de inhibina denominadas A y B, y sus diferencias se deben a variaciones en la secuencia de los aminoácidos de la subunidad beta, ya que la subunidad alfa es constante, pudiendo la inhibina estar formada por una subunidad alfa y una subunidad beta A (inhibina A), o por una subunidad alfa y otra beta B (inhibina B), esto tanto en líquido folicular bovino como ovino y porcino.<sup>120,123</sup> La inhibina se ha caracterizado en el líquido folicular de especies como los bovinos, equinos, ovinos, caprinos, porcinos, roedores y primates.<sup>119,147,148</sup>

Existe una gran homología interespecie en la estructura primaria de las subunidades alfa y beta, para la subunidad alfa la homología es cercana al 85 % y del 95 al 100 % para la subunidad beta.<sup>120</sup> Tanto la subunidad alfa como la subunidad beta son sintetizadas primeramente en una pre-pro forma, y se ha determinado que por separado las subunidades que constituyen a la inhibina, no son biológicamente activas.<sup>119</sup>

Se han identificado dos formas "libres o nativas" de la subunidad alfa (fragmento N y fragmento C) que unidas a una fracción "pro" constituyen la forma madura de la subunidad alfa; la subunidad alfa madura se unirá posteriormente a la subunidad beta, de tal forma que la inhibina formada será biológicamente activa.<sup>120</sup>

La activina estimula la secreción de FSH y está compuesta por dos subunidades beta A de inhibina o por una beta A y la otra beta B. A la primera se le denomina activina y a la segunda activina A. Los efectos de la activina sobre la secreción hipofisiaria de FSH son antagónicos a los de la inhibina.<sup>120,144,149</sup>

La folistatina también está relacionada con la actividad supresora que se ejerce contra la FSH pero no está formada con fragmentos de inhibina. La folistatina porcina y bovina suprimen específicamente la producción de FSH (la liberación y el contenido celular) aunque con una potencia mucho menor que la inhibina, por lo que se piensa que la inhibina y la folistatina comparten el mismo mecanismo de acción y que sus efectos son aditivos.<sup>120,144,149</sup>

Recientemente, se ha encontrado una homología considerable entre las subunidades beta de la inhibina y otro tipo de proteínas implicadas en la diferenciación celular y en procesos de desarrollo, como son el factor de crecimiento transformador beta, la sustancia inhibidora de los conductos de Müller, el factor de diferenciación eritroide y la activina. También se ha aislado RNAm para la inhibina en el cerebro y en la médula espinal, por lo que se piensa que pudiera tener un papel regulador en el sistema nervioso central. A estas proteínas se les ha agrupado dentro de la familia de "péptidos relacionados con la inhibina".<sup>120,123</sup>

En vacas y ovejas se ha utilizado experimentalmente la administración de líquido folicular bovino, ovino o equino libre de esteroides para suprimir específicamente las concentraciones plasmáticas de la FSH, incrementar la tasa ovulatoria o retardar el inicio del estro;<sup>119,150-154</sup> así como para adelantar la pubertad en ovejas hembras y machos inmaduros sexualmente, al inmunizarlos activamente con líquido folicular.<sup>155</sup> Los principales efectos del líquido folicular se han atribuido a la acción de su elevado contenido de inhibina.<sup>122</sup> La supresión efectiva de las concentraciones plasmáticas de la FSH dependen de la dosis de líquido folicular administrado, ya que en ovejas la aplicación cada 8 o cada 12 horas, de cantidades de líquido folicular bovino menores a 1 ml no producen ningún efecto o su efecto es breve, mientras que la administración de 1 a 5 ml son efectivas para inhibir a niveles no detectables la FSH plasmática.<sup>156,157</sup>

En ovejas, la administración endovenosa de 3 ml de líquido folicular equino cada 8 horas durante 8 a 10 días, ha permitido la inhibición de la secreción de FSH y del desarrollo folicular en ovejas.<sup>45</sup> También ha permitido alargar la vida de un cuerpo lúteo destinado a tener corta duración en ovejas en anestro estacional inducidas a ovular con hCG,<sup>18,46</sup> y ha retrasado la luteólisis en algunas ovejas a las que se les transfieren embriones en asincronía.<sup>11</sup> Las concentraciones de FSH se encuentran inhibidas mientras se mantiene la administración de líquido folicular, y al suspenderse su aplicación dichas concentraciones se incrementan hasta tres veces, por lo que este efecto se utiliza en ovejas para incrementar la tasa ovulatoria, ya que la elevación en los niveles de FSH puede afectar la dinámica folicular y promover el desarrollo de un mayor número de folículos preovulatorios,<sup>154,158,159</sup> mediante el incremento en la aromatización de andrógenos a estrógenos y de la secreción de estradiol.<sup>118,151,160,161</sup> Las dosis utilizadas para el incremento de la tasa ovulatoria son de alrededor de 9 ml cada 8 horas, durante un menor periodo que el utilizado para disminuir las concentraciones de FSH.<sup>154</sup>

Este efecto superovulatorio se puede lograr también mediante la inmunización contra la subunidad alfa de la inhibina, ya que al incrementarse los niveles de la FSH tanto el diámetro de los folículos como la tasa de ovulación de las hembras inmunizadas se incrementa,<sup>136,162-165</sup> al igual que la tasa de parición.<sup>166</sup> De la misma manera, la administración de líquido folicular durante el periodo preovulatorio previene la ovulación y retrasa el inicio del estro.<sup>118,151,167</sup>

En las ovejas tratadas con líquido folicular bovino se reduce el desarrollo folicular,<sup>168,169</sup> ya que el mayor diámetro que alcanzan los folículos es de alrededor de 3 mm,<sup>168</sup> y en caso de existir folículos grandes (mayores o iguales a 5 mm de diámetro) tienen menores concentraciones de  $17 \beta$  estradiol, contienen una menor cantidad de células de la granulosa y su actividad para aromatizar testosterona a  $17 \beta$  estradiol se encuentra reducida.<sup>118,152</sup> Además, la producción de AMP cíclico (AMPC) por parte de estas células en respuesta al desafío con FSH o con LH es menor.<sup>118</sup>

Tanto la proliferación de las células de la granulosa como la biosíntesis de estradiol folicular y el desarrollo de la capacidad de respuesta de las células de la granulosa a la FSH o a la LH (medida a través de la producción de AMPC) son eventos dependientes de las concentraciones plasmáticas de la FSH. Por lo que la reducción o inhibición de la FSH afectará forzosamente estos eventos.<sup>118</sup> En yeguas se ha demostrado que la administración de líquido folicular equino también suprime las concentraciones de FSH circulante y en consecuencia, inhibe el crecimiento folicular y retrasa la ovulación.<sup>44,170,171</sup>

e) *Somatotropina y somatomedinas*. La hormona del crecimiento o somatotropina es una proteína lineal simple compuesta de 191 aminoácidos y producida por las células denominadas somatotropos de la hipófisis anterior.<sup>172,173</sup> La estructura cuaternaria de la somatotropina consta de 4 hélices y 2 regiones, una principalmente somatogénica y otra principalmente lactogénica. La somatotropina es inicialmente sintetizada como un precursor proteico, con un péptido señal aminoterminal, que es removido durante su secreción. La forma madura está compuesta de 191 aminoácidos, con un peso molecular de 22,000 daltons y subunidades unidas por disulfuro. La producción de la somatotropina por la hipófisis anterior está controlada por dos péptidos hipotalámicos antagonistas en sus funciones; la somatostatina, que actúa inhibiendo su secreción, y el factor liberador de la somatotropina, que estimula su síntesis y secreción. Basado en la secuencia de sus aminoácidos, la somatotropina se ha agrupado como miembro de una familia de proteínas homólogas que incluyen a la prolactina y a los lactógenos placentarios.<sup>174</sup>

La somatotropina se ha obtenido de especies como los roedores, bovinos, ovinos, caprinos, porcinos, humanos, equinos, peces y aves. Comercialmente se produce gran cantidad de somatotropina bovina mediante ingeniería genética, utilizando la expresión del gen de la somatotropina en la *Escherichia coli*. Además de existir animales transgénicos que producen grandes cantidades de somatotropina.<sup>175</sup>

En general, la somatotropina actúa estimulando la síntesis de proteínas y aminoácidos, así como su transporte al interior de las células; promueve también una mayor retención de nitrógeno y fósforo, aumenta la movilización de las reservas de triglicéridos del tejido adiposo y estimula la gluconeogénesis hepática, incrementando el aporte de glucosa a la circulación,<sup>176-179</sup> contribuyendo además a la retención de sodio, potasio, magnesio y cloro.<sup>180</sup>

Los efectos de la somatotropina sobre el ovario son mediados principalmente por el IGF-I y la insulina, ya que los folículos ováricos poseen un reducido número de receptores para la somatotropina.<sup>181</sup> Sin embargo, la somatotropina juega un importante papel en el mantenimiento de la sensibilidad de los folículos a las gonadotropinas, ya que la administración de gonadotropinas a ovejas hipofisectomizadas mantiene el desarrollo folicular sólo cuando se utiliza también somatotropina,<sup>182</sup> y en el caso de vacas superovuladas, la somatotropina incrementa al doble el número de folículos antrales pequeños y medianos.<sup>183,184</sup>

En bovinos la administración de somatotropina bovina favorece la función lútea e incrementa los niveles de progesterona, según la fase del ciclo estral en que se administre. Así, en hembras bovinas subfértiles,

Morales <sup>55</sup> encontró que un tratamiento corto con somatotropina bovina, administrada al momento de la inseminación artificial, mejoró la fertilidad e incrementó las concentraciones de progesterona de las hembras tratadas.

Tanto en ovinos como en bovinos, las concentraciones de progesterona se elevan cuando la somatotropina se administra al inicio del ciclo estral, y no cuando se administra a la mitad del ciclo, lo que podría sugerir que el efecto es mayor sobre la formación del cuerpo lúteo que sobre su función esteroidogénica. Así, Lucy *et al.* <sup>185</sup> señalan que cuando la somatotropina se administra durante los primeros 9 días del ciclo estral, estimula el desarrollo del cuerpo lúteo y origina un mayor tamaño, así como una producción de progesterona más alta. Este efecto se observó también cuando la somatotropina fue administrada entre el día 16 y 21 del ciclo, pero no cuando se administró entre los días 10 a 15. También se ha informado de incrementos en los niveles de la progesterona circulante, durante los dos ciclos estrales posteriores a la administración de somatotropina en vacas no gestantes, <sup>186,187</sup> y dicho efecto se mantiene incluso durante toda la gestación. <sup>187</sup> Sin embargo, Lucy *et al.* <sup>188</sup> informan que durante el reconocimiento de la gestación en vacas en lactación (alrededor del día 16 posestro), la administración de somatotropina incrementó el peso del cuerpo lúteo, pero no la producción de progesterona, ni modificó el desarrollo de los embriones colectados al día 17 posterior al estro.

Rosas *et al.* <sup>189</sup> encontraron que en ovejas donadoras de embriones tratadas con somatotropina bovina al momento de ser detectadas en estro, las concentraciones promedio de la progesterona plasmática fueron superiores a las de las ovejas no tratadas.

Los efectos de la somatotropina son mediados por las somatomedinas o factores de crecimiento, las cuales son proteínas de peso molecular menor a 30 mil daltons, que se producen por estimulación de la somatotropina. <sup>176</sup> Existen diferentes factores de crecimiento, como son el factor de crecimiento transformador (TGF), los factores de crecimiento parecidos a la insulina (IGF-I y II), el factor de crecimiento epidermal (EGF) y los factores de crecimiento de los fibroblastos (FGF), que intervienen en el desarrollo de los embriones antes de su implantación y posteriormente son mediadores de la decidualización e implantación embrionaria. <sup>190</sup> Estos factores de crecimiento además de participar en el metabolismo embrionario estimulando la síntesis de proteínas del embrión, estimulan el crecimiento y diferenciación de las células uterinas. De estos factores de crecimiento, el IGF-I es el mediador más importante que se produce en respuesta a la hormona del crecimiento o somatotropina, <sup>190</sup> encontrándose

un importante incremento en sus niveles dentro de las 48 horas posteriores a la aplicación de la somatotropina.<sup>183</sup>

En estudios realizados sobre el desarrollo *in vitro* de embriones ovinos, se ha determinado que la adición de IGF-I y II incrementa de manera importante la secreción embrionaria del oIFN- $\tau$ , por lo que podría favorecer el reconocimiento de la gestación,<sup>191</sup> iniciando o ampliando la comunicación entre el embrión y el útero que lo gesta.<sup>192</sup> Además de sus efectos sobre el desarrollo embrionario, tanto el IGF-I como el IGF-II pueden actuar a nivel ovárico, oviductal y uterino, ya que existen receptores para los factores de crecimiento en estos tejidos.<sup>193,194</sup>

En las células oviductales de borrega se ha observado que existen receptores para IGF-II durante todas las fases del ciclo estral. Se han encontrado altos niveles de RNAm para IGF-I en los ovarios de fetos como de ovejas adultas, sobre todo a nivel de células de la granulosa y teca de los folículos antrales, y también a nivel del cuerpo lúteo de ovejas adultas.<sup>194</sup>

En el cuerpo lúteo de la coneja, tanto *in vivo* como *in vitro*, estudios sobre el efecto del IGF-I sobre la producción de progesterona han encontrado una alta correlación entre la expresión génica del IGF-I y los niveles de la progesterona. La producción de progesterona es aún mayor cuando se estimula al cuerpo lúteo conjuntamente con IGF-I y estradiol, por lo que se ha sugerido que las células lúteas secretan los IGF-I como una acción autócrina, y que a través de ellos se regula la producción de progesterona.<sup>194</sup>

Con embriones ovinos *in vivo* se ha determinado que entre los días 12 a 14 de la gestación, el contenido luminal uterino de los IGF-I es mayor, coincidiendo con los días de mayor producción de oIFN- $\tau$ . Mientras que *in vitro*, existe evidencia que sugiere que los IGF-I juegan un papel importante en el mantenimiento de la secreción de oIFN- $\tau$ .<sup>191</sup> De la misma manera se ha asignado en cerdas y vacas, un papel importante de los IGF-I y II durante el proceso de la peri-implantación embrionaria.<sup>192</sup>

Estudios *in vitro* han demostrado que existe una alta correlación entre el estado de desarrollo del embrión y su capacidad para responder a los IGF,<sup>195</sup> ya que los niveles de IGF-I e IGF-II en cerdas, aumentan en el día 12, momento en que se inician importantes transformaciones morfológicas en el embrión suino a nivel uterino.<sup>196</sup> De igual manera, la mayor expresión del IGF-II en vacas ocurre entre el día 15 a 18 de la gestación, cuando el crecimiento y expansión del embrión bovino se hace evidente.<sup>197</sup>

En ratas las somatomedinas controlan la sobrevivencia de las células foliculares mediante el bloqueo de la muerte celular por apoptosis, evitando así la atresia.<sup>198</sup> De igual manera, los IGF-I estimulan en

forma dosis-dependiente la proliferación de las células de la granulosa en folículos pequeños, medianos y grandes de bovinos. Al actuar en presencia de la hormonas folículo estimulante y luteinizante, los IGF-I estimulan la proliferación de las células de la granulosa de los folículos pequeños.<sup>199</sup>

**f) Funciones metabólicas de la somatotropina.** La mayor cantidad de estudios sobre la somatotropina se han centrado sobre su papel homeorético, al aportar nutrientes hacia algunos de sus blancos fisiológicos específicos, como son el crecimiento y la lactación.

**Promoción del crecimiento.** Aunque la forma en que la somatotropina actúa como promotora del crecimiento es bien conocida, la manera precisa en que coordina los complejos procesos metabólicos responsables del crecimiento no están completamente entendidos. Sin embargo, se ha establecido que posterior a su secreción la somatotropina actúa directamente uniéndose a los receptores en las células precursoras de huesos, músculos y células grasas, lo que resulta en su diferenciación y proliferación. También la somatotropina actúa indirectamente al estimular a los hepatocitos y otros tipos celulares para que secreten IGF-I, los cuales actúan en los tejidos periféricos promoviendo el crecimiento.<sup>200</sup>

La administración de somatotropina a animales deficientes en ella provoca un incremento en la síntesis de proteínas y la movilización de grasas, al mismo tiempo que decremента la utilización de glucosa. Debido a su actividad antinsulínica, la somatotropina inhibe la captación de glucosa por el músculo. Este efecto diabotogénico puede resultar en hiperglicemia y se asocia ocasionalmente con la hiperinsulinemia. Estos mismos efectos fisiológicos se han observado en animales normales a los que se les administra somatotropina exógena.<sup>201</sup>

En ovejas, las evidencias recientes sugieren que los efectos de la somatotropina exógena sobre el crecimiento, la eficiencia alimenticia y la composición de la canal son limitados, o con resultados inconsistentes, ya que en la mayoría de los casos no se ha incrementado de manera significativa la ganancia diaria de peso ni la eficiencia en la conversión de alimento. Sin embargo, se ha observado un decremento en la grasa de la canal de aproximadamente 10 a 20%.<sup>202,203</sup> Los efectos de la somatotropina sobre el crecimiento de la lana no están bien definidos, ya que en algunos animales tratados con somatotropina bovina se ha observado un crecimiento de la lana, mientras que en aquellos tratados con somatotropina ovina, el crecimiento se ha disminuido durante el tratamiento e incrementado una vez concluido éste.<sup>204</sup>

En los bovinos es en donde más se ha utilizado la administración de la somatotropina, mejorando la ganancia diaria de peso y la conversión alimenticia hasta en un 20%. En estudios a largo plazo, en donde los animales reciben somatotropina bovina o somatotropina recombinante por periodos superiores a los 250 días, es donde se han observado los efectos más pronunciados. Mientras que en tratamientos de menor duración, se ha encontrado que la somatotropina reduce la grasa de la canal e incrementa significativamente la retención de nitrógeno.<sup>205</sup>

Numerosos estudios realizados en cerdos en desarrollo, han demostrado que la administración diaria de somatotropina porcina incrementa significativamente el crecimiento, aumentando entre un 10 y un 20% la ganancia diaria de peso y hasta en un 40% la deposición de proteínas, además de mejorar la conversión alimenticia.<sup>206-208</sup> En general, el tratamiento de cerdos con somatotropina porcina incrementa las concentraciones de glucosa plasmática y las concentraciones de insulina, siendo este efecto consistente con la actividad diabotogénica de la somatotropina. Además, la administración de dosis altas se ha asociado con anomalías sistémicas, como la degeneración del hígado y del riñón, efectos que pueden ser disminuidos modificando la dieta de los animales durante el periodo de administración de la somatotropina.<sup>206,209-211</sup>

***Incremento de la producción láctea.*** Los efectos estimulantes de la somatotropina sobre la producción láctea en ganado bovino lechero han sido ampliamente documentados.<sup>212,213</sup> Aunque el mecanismo preciso aún no se ha aclarado, es evidente que en diferentes tejidos y particularmente en el mamario, se producen cambios organizados de las funciones metabólicas, de tal manera que se incrementa el aporte de nutrientes hacia la glándula mamaria, lo que favorece el efecto galactopoyético de la somatotropina.

En vacas tratadas con somatotropina la producción de leche se aumenta inmediatamente, a diferencia del incremento en el consumo de alimento, que se presenta hasta las 5 ó 7 semanas de iniciado el tratamiento. Esto significa que inmediatamente es necesario movilizar nutrientes a partir de los almacenes corporales para cubrir los requerimientos de la lactación. Al mismo tiempo, los efectos antinsulínicos de la somatotropina provocan una reducción en la utilización de glucosa por los tejidos periféricos, dejándola disponible para ser utilizada por la glándula mamaria. El aumento en las concentraciones de glucosa que se ha observado en los cerdos, no se presenta en las vacas lecheras en

producción, lo que se debe en parte a la eficiente remoción de glucosa de la circulación por parte de la glándula mamaria, que la utiliza para la síntesis de lactosa.<sup>212,213</sup>

Uno de los más importantes efectos metabólicos de la somatotropina es su habilidad para disminuir la síntesis de grasa y estimular la lipólisis en el tejido adiposo, por lo que generalmente se observa una disminución en la grasa corporal en los animales tratados con somatotropina. En el ganado lechero, la administración de somatotropina provoca un aumento en las concentraciones plasmáticas de los ácidos grasos no esterificados, lo que en condiciones normales solamente ocurre cuando los animales están en un balance energético negativo.<sup>212,213</sup>

La administración de somatotropina no modifica la composición de la leche, aunque se han observado pequeños cambios en la cantidad de proteína o grasa, como probable reflejo del estado de la lactación, del balance energético y de la dieta. La administración de somatotropina incrementa el riego sanguíneo hacia la glándula mamaria, sin ser claro si este incremento es causa o consecuencia del incremento en la actividad de la glándula mamaria.<sup>214</sup> Es poco probable que la somatotropina actúe directamente sobre el tejido mamario, ya que las células mamarias epiteliales carecen de receptores funcionales para la somatotropina.<sup>215</sup> Además, la infusión directa de somatotropina en la sangre arterial que nutre a la glándula mamaria no estimula la secreción de leche.<sup>216</sup> Al igual que en otras funciones, el IGF-I media los efectos de la somatotropina sobre la glándula mamaria, ya que se ha demostrado un incremento de cerca de 30% en la producción de leche, con la infusión de IGF-I en la arteria pudenda de cabras en lactación. Por el contrario, la administración de IGF-1 a través de la vena yugular no afecta la producción láctea, efecto debido probablemente a su dilución en la circulación general o al secuestro por las proteínas de unión del IGF-1 en el suero.<sup>214</sup>

**g) Somatotropina y animales transgénicos.** Los genes que expresan a la somatotropina se han identificado e introducido a líneas germinales de conejos, ovejas y cerdos, y los primeros transgénicos producidos fueron ratones con el gen de la somatotropina humana o de rata.<sup>175</sup> La expresión de estos genes está bajo el control de la secuencia reguladora, metalotioienin-1 de transcripción (mMT-1), que regula la expresión génica en casi todos los tejidos del ratón, con altos niveles en el RNA mensajero para la somatotropina que se acumulan en el hígado, intestino y riñón, y que puede inducirse por metales pesados como el zinc.<sup>175</sup>

En general, los ratones que contienen y expresan los genes de somatotropina de diferentes especies crecen aproximadamente al doble de su tamaño normal, presentando un crecimiento máximo entre las 5 y las 11 semanas de edad.<sup>175,217</sup> Los ratones transgénicos producen en forma crónica altas concentraciones séricas de somatotropina, y llegan a presentar una gran variedad de anomalías morfológicas y fisiológicas, como son el exagerado aumento en el tamaño de órganos como el hígado, riñón, bazo y el páncreas.<sup>218</sup> Los animales con altas concentraciones de somatotropina presentan hipercolesterolemia, pero sus niveles de triglicéridos son normales. Mientras que en los ratones transgénicos, las concentraciones de insulina son de 3 a 8 veces mayores que en los controles, y las concentraciones de IGF-I son 2 veces más altas.<sup>218</sup>

A diferencia de los ratones transgénicos, los cerdos transgénicos generalmente no presentan un mayor crecimiento. Sin embargo, son aproximadamente un 15% más eficientes para convertir la comida en masa corporal, efecto similar al observado en aquellos cerdos a los que se administra somatotropina porcina exógena. Aunque tanto los cerdos transgénicos como a los que se administra somatotropina presentan supresión del apetito, al ser alimentados con dietas altas en proteína y suplementados con lisina, pueden crecer hasta un 15% más rápido que los controles.<sup>209,219,220</sup> En cerdos que expresan el gen humano de la somatotropina se presentan úlceras pépticas, pericarditis y problemas de fertilidad,<sup>219</sup> y al igual que en los ratones transgénicos, pueden presentar órganos como corazón, riñón, hígados, glándulas tiroideas y adrenales de mayor tamaño, así como un incremento en el peso y en la circunferencia de los huesos.<sup>219</sup> En particular, los cerdos transgénicos presentan niveles elevados de glucosa y concentraciones plasmáticas de insulina mayores a los controles hasta en un 20%, condición que se presenta también en los cerdos inyectados con somatotropina porcina.<sup>209,210</sup>

Las ovejas que expresan los genes de la somatotropina ovina o bovina crecen igual o un poco menos rápido que los controles, pero tienen mucho menos grasa corporal, y a diferencia de otras especies, la expresión del gen de la somatotropina no afecta la conversión alimenticia.<sup>174</sup> El incremento de la somatotropina sérica de las ovejas transgénicas resulta en un incremento de las concentraciones de IGF-I, así como de los niveles plasmáticos de la glucosa e insulina. Sin embargo, a partir de los 100 días de edad, tanto la glucosa como la insulina de las ovejas transgénicas son menores a los de los animales control, lo que sugiere que la excesiva secreción de somatotropina les provoca diabetes, siendo común la muerte de las ovejas cuando tienen alrededor de un año de edad.<sup>174</sup>

## 4.- Referencias

- 1 Roberts RM, Scalap-Francis T. Maternal recognition of pregnancy and embryonic loss. *Theriogenology* 1990;33:175-183
- 2 Jainudeen MR, Hafez ESE. *In Reproduction in Farm Animals*. Lea and Febiger, 6th edition, USA. (1993).
- 3 Zarco L, Stabenfeldt GH, Kindahl H, Quirke JF, Granström E. Persistence of luteal activity in the non-pregnant ewe. *Anim Reprod Sci* 1984;7:245-267
- 4 Garverick HA, Zollers WG, Smith MF. Mechanisms associated with corpus luteum lifespan in animals having normal or subnormal luteal function. *Anim Reprod Sci* 1992;28:111-124.
- 5 Hunter MG. Characteristics and causes of the inadequate corpus luteum. *J Reprod Fert* 1991;43:91-99. Suppl.
- 6 Roberts RM, Leaman WD, Cross CJ. Role of interferons in maternal recognition of pregnancy in ruminants. *Soc Experimental Biol Med* 1992;200:7-18.
- 7 Salamonsen LA, Cherny RA, Findlay JK. In-vitro studies of the effects of interferons on endometrial metabolism in sheep. *J Reprod Fert* 1991;43:27-38. Suppl.
- 8 Thatcher WW, Bazer FW, Sharp DC, Roberts RM. Interrelationship between uterus and conceptus to maintain corpus luteum function during early pregnancy: sheep, cattle, pig and horses. *J Anim Sci* 1986; 67:47-61. Suppl. 2.
9. Putney DJ, Malayer JR, Gross TS, Thatcher WW, Hansen PJ, Drost M. Heat stress-induced alterations in the synthesis and secretion of proteins and prostaglandins by cultured bovine conceptuses and uterine endometrium. *Biol Reprod* 1988;39:717-728.
- 10 Odensvik K, Gustafsson H. Effect of flunixin during asynchronous embryo transfer in the heifer. *Anim. Reprod. Sci* 1994;36:13-24
- 11 Mejía O, Balcázar J, Zarco L, Valencia J, Rojas S. Sobrevivencia de embriones ovinos transferidos en asincronía mediante la administración de líquido folicular equino. *Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria*; 1995 noviembre 21-22; México. México (DF): SAGAR, UACH, Paiepeme, CP, UNAM, FMVZ, FESC.. *Vet Méx* 1995;26:342 (Suppl. 2).
12. Moore NW, Shelton JN. Egg transfer in sheep. *J Reprod Fert* 1964;7:145-152.
- 13 Wilmut I, Sales DI, Ashworth CJ. The influence of variation in embryo stage and maternal hormone profiles on embryo survival in farm animals. *Theriogenology* 1985;23:107-119.
- 14 Walton JS, McNeilly JR, McNeilly NS, Cunningham FJ. Changes in concentrations of follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, prolactin and progesterone in the plasma of ewes during the transition from anoestrus to breeding activity. *J Endocr* 1977;75:127-136.
15. Oldham CM, Martin GB. Stimulation of seasonally anovular Merino ewes by rams. II Premature regression of ram induced corpora lutea. *Anim Reprod Sci* 1979;1:291-295.
16. Braden TD, King MF, Odde KG., Niswender GD. Functional and morphologic characteristics of the first corpus luteum formed after parturition in ewes. *J Reprod Fert* 1989;86:525-533.
17. Rodríguez MR. Efecto de la suplementación sobre el inicio de la actividad reproductiva de la oveja tabasco o pelibuey (tesis de doctorado) México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1991.

- 18 Balcázar, S J Efecto de la suplementación alimenticia sobre la eficiencia reproductiva de corderas pelibuey inducidas a la pubertad con acetato de melengestrol (tesis de licenciatura) México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1992
- 19 Zarco L, Balcázar A, Mejía O. Infertilidad debida a Asincronía Materno-Embrionaria en Rumiantes. Memorias del XIV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias; 1994 octubre 9-15; México. Acapulco (Gro):PANVET 1994:592-593.
- 20 Southee JA, Hunter MG, Law AS, Haresing W. Effect of hysterectomy on the short life- cycle corpus luteum produced after GnRH-induced ovulation in the anoestrous ewe. *J Reprod Fertil* 1988;84:149-155.
- 21 Copelin JP, Smith MF, Keisler DH, Garverick HA Effect of active immunization of prepartum and post-partum cows against prostaglandin F<sub>2α</sub> on lifespan and progesterone secretion of short-lived corpora lutea. *J Reprod Fert* 1989;87:199-207.
- 22 Hunter MG, Ayad VJ, Gilbert CL, Southee JA, Wathes DC Role of prostaglandin F<sub>2α</sub> and oxytocin in the regression of GnRH-induced abnormal corpora lutea in anestrus ewes. *J Reprod Fert* 1989;85:551-556.
23. Peter AT, Bosu WT, Liptrap RM, Cumming E. Temporal changes in serum prostaglandin F<sub>2α</sub> and oxytocin in dairy cows with short luteal phases after the first post-partum ovulation. *Theriogenology* 1989; 32:277-284.
24. Cooper DA, Carver DA, Villeneuve P, Silvia WJ, Inskip EK. Effects of progesterone treatment on concentrations of prostaglandins and oxytocin in plasma from the posterior vena cava of post-partum beef cows. *J Reprod Fert* 1991;91:411-421.
- 25 Vallet JL, Lamming GE, Batten M. Control of endometrial oxytocin receptor and uterine response to oxytocin by progesterone and oestradiol in the ewe. *J Reprod Fert* 1990;90:625-634.
- 26 Silvia WJ, Lewis GS, McCracken JA, Thatcher WW, Wilson L. Hormonal regulation of uterine secretion of prostaglandin F<sub>2α</sub> during luteolysis in ruminants *Biol Reprod* 1991;45:655-663.
27. Lau TM, Gow CB, Fairclough RJ. Increases in the oxytocin-induced prostaglandin F<sub>2α</sub> response and reduction in the concentrations of endometrial oxytocin receptors in ewes in response to progesterone. *J Reprod Fert* 1992;95:11-18.
- 28 Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature New Biology* 1971;231:232-235.
29. Barcikowski B, Carlson JC, Wilson L, McCracken. The effect of endogenous and exogenous estradiol-17β on the release of prostaglandin F<sub>2α</sub> from the ovine uterus. *Endocrinology* 1974;95:1340-1349.
30. Flint APF, Sheldrick EL. Evidence for a systemic role for ovarian oxytocin in luteal regression in sheep. *J Reprod Fert* 1983;67:215-225.
31. Gilbert DE, Conrod SA, Whiting CJ, Pashen RL. Comparison of a progesterone intravaginal device (CIDR) with flunxine meglumine (FINADYNE) for reducing the effects of corpora lutea regression in the goat. *Theriogenology* 1990;33:230.
32. Gandolfi F, Brevini TAL, Modena A, Passoni L. Early embryonic signals: embryo-maternal interactions before implantation. *Anim Reprod Sci* 1992;28:269-276.
- 33 Rajamahendran R, Sianangama PC. Effect of human chorionic gonadotrophin on dominant follicles in cows: formation of accessory corpora lutea, progesterone production and pregnancy rates. *J Reprod Fert* 1992;95:577-584.
34. Ashworth CJ. Synchrony embryo-uterus. *Anim Reprod Sci* 1992;28:259-267.

35. Ott TL, Mirando MA, Davis MA, Bazer FW. Effects of ovine conceptus secretory proteins and progesterone on oxytocin-stimulated endometrial production of prostaglandin and turnover of inositol phosphate in ovariectomized ewes. *J Reprod Fert* 1992;95:19-20.
36. Thatcher WW, McMillan KL, Hansen PJ, Drost M. Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. *Theriogenology* 1989;31:149-165.
37. Flint APF, Parkinson TJ, Stewart HJ, Vallet JL, Lamming GE. Molecular biology of trophoblast interferons and studies of their effects in vivo. *J Reprod Fert* 1991;13-25. Suppl. 43.
38. Garverick HA, Moser MT, Kiesler DH, Hamilton SA, Roberts RM, Smith MF. Luteal function after intrauterine infusion of recombinant bovine interferon alpha 1 into postpartum beef cows expected to have short or normal luteal phases. *J Reprod Fert* 1992;94:319-325.
39. Parkinson TJ, Lamming GE, Flint APF, Jenner LJ. Administration of recombinant bovine interferon- $\alpha$  at the time of maternal recognition of pregnancy inhibits prostaglandin F $_{2\alpha}$  secretion and causes luteal maintenance in cyclic ewes. *J Reprod Fert* 1992;94:489-500.
40. Newton GR, Plante C, Hansen PJ, Thatcher WW. Effects of recombinant bovine interferon  $\alpha$ -1 (IFN) on maternal thermoregulation and embryonic development in vitro. *J Anim Sci* 1989;369. Suppl. 67.
41. McCracken JA, Schramm W, Oculicz WC. Hormone receptor control of pulsatile secretion of PGF $_{2\alpha}$  from the ovine uterus during luteolysis and its abrogation in early pregnancy. *Anim Reprod Sci* 1984;7: 31-55.
42. Sheldrick L. Oxytocin and luteal maintenance in the ewe. *J Reprod Fert* 1991;105-107. Suppl. 43.
43. Grootenhuis AJ, Steenberger J, De Jong FH. Inhibin and activin-like activity in fluids from male and female gonads: different molecular weight forms and bioactivity/immunoactivity ratios. *J Endocrinol* 1989;122:293-301.
44. Gremmes S. Sekretionsmuster der Gonadotropine nach hormoneller Intervention bei der Stute (doctoral dissertation). Hannover, Deutschland: Tierärztliche Hochschule, 1990.
45. Hernández J, Murcia C, Valencia J, Rojas S, Zárate J, Zarco L. Efecto del líquido folicular equino libre de esteroides sobre la secreción de FSH en ovejas en anestro y la presentación del estró inducido con PGF $_{2\alpha}$  en ovejas ciclando. *Vet Méx* 1997;28:117-122.
46. Zárate J. Efecto de la aplicación de líquido folicular equino libre de esteroides sobre la función lútea de ovejas en anestro estacional inducidas a ovular con hCG (tesis de maestría). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, 1996.
47. Wilmut I, Sales DI. Effect of an asynchronous environment on embryonic development in sheep. *J Reprod Fert* 1981;61:179-184.
48. Lawson RAS, Parr RA, Cahill LP. Evidence for maternal control of blastocyst growth after asynchronous transfer of embryos to the uterus of the ewe. *J Reprod Fert* 1983;67:477-483.
49. Wilmut I, Ashworth CJ, Springbett AJ, Sales DI. Effect of variation in embryo stage on the establishment of pregnancy, and embryo survival and growth in ewes with two embryos. *J Reprod Fert* 1988;83:233-237.

50. Wintenberger-Torres S. Action de la progesterone et des steroids ovariens sur la segmentation des ours chez la brebis. *Annls Biol Anim Biochim, Biophys* 1967;7:391-406
51. Moore NW. The use of embryo transfer and steroid hormone replacement therapy in the study of prenatal mortality *Theriogenology* 1985;23:121-128.
52. Pope WF, Cárdenas H, Wiley TM, McClure KE. Dose-response relationships of exogenous progesterone shortly after ovulation on estrous cycle length, blastocyst development and fertility in sheep. *Anim Reprod Sci* 1995;38:109-117.
53. Ashworth CJ, Bazer FW. Changes in ovine conceptus and endometrial function following asynchronous embryo transfer or administration of progesterone. *Biol Reprod* 1989;40:425-433.
54. Geisert DR, Fox CT, Morgan LG, Wells EM, Wettemann PR, Zavy TM. Survival of bovine embryos transferred to progesterone-treated asynchronous recipients. *J Reprod Fert* 1991;92:475-482.
55. Morales S. Efecto de un tratamiento corto de rbST (Lactotropina) sobre la fertilidad de vacas Holstein repetidoras (tesis de maestría) México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1993.
56. Rosas J, Zarco L, Valencia J. Efecto de un tratamiento corto de somatotropina bovina recombinante (rbST) sobre la función lútea y el desarrollo embrionario temprano en la oveja superovulada. *Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria*; 1995 noviembre 21-22; México. México (DF): SAGAR, UACH, Paipeme, CP, UNAM FMVZ.FESC. *Vet Méx* 1995;26:338 (Suppl. 2).
57. Adashi EY, Resnick CE, Svoboda ME, Van Wyk JJ. Somatomedin-C enhances induction of luteinizing hormone receptors by follicle-stimulating hormone in cultured rat granulosa cells. *Endocrinology* 1985; 116 2369-2375.
58. Carson RS, Zhang Z, Hutchinson LA, Herington AC, Findlay JK. Growth factors in ovarian function. *J Reprod Fert* 1989;85:735-746.
59. Zarco L, Stabenfeldt GH, Quirke JF, Kindahl H, Bradford GE. Release of prostaglandin F<sub>2α</sub> and the timing of events associated with luteolysis in ewes with oestrous cycles of different lengths. *J Reprod Fert* 1988;83:517-526
60. Kindahl, H. Maternal recognition of pregnancy in ruminants: an "on-off mechanism" of prostaglandin release. *Memorias del XIV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias*; 1994 octubre 9-15; México. Acapulco (Gro):PANVET 1994:586-589.
61. Niswender GD, Juengel JL, McGuire WJ, Belfiore CJ, Wiltbank MC. Luteal function: the estrus cycle and early pregnancy. *Biol Reprod* 1994;50:239-247.
62. Moore LG, Watkins WB. Embryonic suppression of oxytocin associated neurophysin release in early pregnant sheep. *Prostaglandins* 1982;24:79-87.
63. Silvia WJ, Raw RE. Regulation of pulsatile secretion of prostaglandin F<sub>2α</sub> from the ovine uterus by ovarian steroids. *J Reprod Fert* 1993;98:341-347.
64. Baird DT, Land RB, Scaramuzzi RJ, Wheeler AG. Endocrine changes associated with luteal regression in the ewe; the secretion of ovarian oestradiol, progesterone and androstenedione and uterine prostaglandin F<sub>2α</sub> throughout the oestrus cycle. *J Endocr* 1976;69:275-286.
65. Lau TM, Kerton DJ, Gow CB, Fairclough RJ. Role of progesterone in the control of endometrial oxytocin receptors at luteolysis in sheep. *J Reprod Fert* 1993;98:229-233.

- 66 Lamming JL, Vallet JL, Flint APF. Progesterone control of endometrial oxytocin receptor determines cycle length in sheep. *J Reprod Fert* 1991;43:53-54. Suppl.
- 67 Hixon JE, Flint PF. Effects of a luteolytic dose of oestradiol benzoate on uterine oxytocin receptor concentrations, phosphoinositide turnover and prostaglandin F-2a secretion in sheep. *J Reprod Fert* 1987;79:457-467
- 68 Beard AP, Lamming GE. Oestradiol concentration and the development of the uterine oxytocin receptor and oxytocin-induced PGF<sub>2</sub>α release in ewes. *J Reprod Fert* 1994;100:469-475
- 69 Basu S, Kindahl H. Evaluation of prostaglandin synthesis and release by a continuous blood collection technique during luteolysis and early pregnancy in the heifer. *Theriogenology* 1987;27:211.
- 70 McCracken JA, Baird DT, Goding JR. Factors affecting the secretion of steroids from the transplanted ovary in the sheep. *Rec Prog Hom Res* 1971;27:537-542.
- 71 Zhang J, Weston PG, Hixon JE. Influence of estradiol on the secretion of oxytocin and prostaglandin F<sub>2</sub>α during luteolysis in the ewe. *Biol Reprod* 1991;45:395-403.
- 72 Moore LG, Choy VJ, Elliot RL, Watkins WB. Evidence for pulsatile release of ovarian oxytocin during luteolysis in the ewe. *J Reprod Fert* 1986;76:159-166
- 73 Lamsa J, Kot S, Eldering J, Nay M, McCracken J. Prostaglandin F<sub>2</sub>α-stimulated release of ovarian oxytocin in the sheep *in vivo* threshold and dose dependency. *Biol Reprod* 1989;40:1215-1223
- 74 Wathes DC, Denning-Kendall PA. Control of synthesis and secretion of ovarian oxytocin in ruminants. *J Reprod Fert* 1992;45:39-52.
- 75 Zarco L, Stabenfeldt GH, Basu S, Bradford GE, Kindahl H. Modification of prostaglandin F<sub>2</sub>α synthesis and release in the ewe during initial establishment of pregnancy. *J Reprod Fert* 1988;83:527-536
- 76 Horton EW, Poyser NL. Uterine luteolytic hormone: A physiological role for prostaglandin F<sub>2</sub>α. *Physiological Reviews* 1976;56:595-650.
- 77 Schwall RH, Sawyer HR, Niswender GD. Differential regulation by LH and prostaglandins of steroidogenesis in small and large luteal cells of the ewe. *J Reprod Fert* 1986;76:821-829.
- 78 Hansel W, Ailla HW, Dowd JP, Milvae RA. Differential origin and control mechanisms in small and large bovine luteal cells. *J Reprod Fert* 1991;43:77-89.
- 79 McLeod BJ, Haresing W, Lamming GE. Response of seasonally anoestrous ewes to small-dose multiple injection of GnRH without progesterone pre-treatment. *J Reprod Fert* 1982;65:223-230.
- 80 McLeod BJ, Haresing W, Lamming GE. The induction of ovulation and luteal function in seasonally anoestrous ewes treated with small-dose multiple injection of GnRH. *J Reprod Fert* 1982;65:215-221.
- 81 O'Shea JD, Rodgers RJ, Wright PJ. Morphometric analysis and function *in vivo* and *in vitro* of corpora lutea from ewes treated with LHRH during seasonal anestrus. *J Reprod Fert* 1984;72:75-85.
- 82 Southey JA, Hunter MG, Haresing W. Function of abnormal corpora lutea *in vivo* after GnRH induced ovulation in the anoestrous ewe. *J Reprod Fert* 1988;84:131-137.

83. Dnancourt MA, Bodin L, Boomarov O, Thimonier J, Eisen JM. Number of mature follicles ovulating after a challenge of human chorionic gonadotropin in different breeds of sheep at different physiological stages. *J Anim Sci* 1990;68:719-724.
84. Geisert DR, Short CE, Zavy TM. Maternal recognition of pregnancy. *Anim Reprod Sci* 1992;28:287-298
85. Roberts RM, Farin EC, Cross CJ. Trophoblast proteins and maternal recognition of pregnancy. *Oxford Reviews of Reproductive Biology* 1990;12:147-180.
86. Moor RM, Rowson LEA. The corpus luteum of the sheep: functional relationship between the embryo and the corpus luteum. *J Endocrinol* 1966;34:233-239.
87. Roberts RM, Imakawa K, Niwano Y, Kazemi M, Malathy PV, Hansen TR, Glass AA, Kronenberg LH. Interferon production by the preimplantation sheep embryo. *J Interferon Research* 1989;9:175-187.
88. Stewart HJ, Flint APF, Lamming GE, McCann SHE, Parkinson TJ. Antiluteolytic effects of blastocyst-secreted interferon investigated in vitro and in vivo in the sheep. *J Reprod Fert* 1989;37:127-138. Suppl.
89. Flint APF, Sheldrick EL, Theodosis DT, Wooding FBP. Ovarian peptides: role of luteal oxytocin in the control of the estrous cyclicity in ruminants. *J Anim Sci* 1986;62:62-71. Suppl.
90. Stewart HJ, Guesdon FMJ, Payne JH, Charleston B, Vallet JL, Flint APF. Trophoblast interferon in early pregnancy of domestic ruminants. *J Reprod Fert* 1992;45:59-68. Suppl.
91. Wiepz GJ, Wiltbank MC, Nett TM, Niswender GD, Sawyer HR. Receptors for prostaglandins F<sub>2</sub> $\alpha$  and E<sub>2</sub> in ovine corpora lutea during maternal recognition of pregnancy. *Biol Reprod* 1992;47:984-991.
92. Wiltbank CM, Wiepz JG, Knickerbocker JJ, Belfiore JC, Niswender DG. Proteins secreted from the early ovine conceptus block the action of prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  on large luteal cells. *Biol Reprod* 1992;46:475-482.
93. Godkin JD, Bazer FW, Moffatt J, Sessions F, Roberts RM. Purification and properties of a major, low molecular weight protein released by the trophoblast of sheep blastocyst at day 13-21. *J Reprod Fert* 1982;65:141-150.
94. Godkin JD, Bazer FW, Thatcher WW, Roberts RM. Proteins released by cultured Day 15-16 conceptuses prolong luteal maintenance when introduced into the uterine lumen of cyclic ewes. *J Reprod Fert* 1984;71:57-64.
95. Martal J, Degryse E, Charpigny G, Assal N, Reinaud P, Chartier M, Gaye P, Lecocq JP. Evidence for extended maintenance of the corpus luteum by uterine infusion of a recombinant trophoblast alpha interferon (trophoblastin) in sheep. *J Endocrinol* 1990;127:R5-R8
96. Gnatek GG, Smith LD, Doby RT, Godkin JD. Maternal recognition of pregnancy in the goat: effects of conceptus removal on interestrus intervals and characterization of protein production during early pregnancy. *Biol Reprod* 1989;41:655-663.
97. Bazer FW, Thatcher WW, Hansen PJ, Miranda MA, Ott TL, Plante C. Physiological mechanisms of pregnancy recognition in ruminants. *J Reprod Fert* 1991;43:39-47. Suppl.
98. Bazer FW. Mediators of maternal recognition of pregnancy in mammals. *Soc Experimen Biol Med* 1992;199:373-384.
99. Thatcher WW, Hansen PJ, Gross TS, Helmer SD, Plante C, Bazer FW. Antiluteolytic effects of bovine trophoblast protein-1. *J Reprod Fert* 1989;37:91-99. Suppl.
100. Godkin JD, Bazer FW, Roberts RM. Ovine trophoblast protein 1, an early secreted blastocyst protein, binds specifically to uterine endometrium and affects protein synthesis. *Endocrinology* 1984;114:120-130.

101. Bazer FW, Vallet JL, Harney JP, Gross TS, Thatcher WW. Comparative aspects of maternal recognition of pregnancy between sheep and pigs. *J Reprod Fert* 1989;37:85-89. Suppl.
102. Martinod S, Maurer RR, Siegenthaler B, Gerber C, Hansen PJ. The effects of recombinant bovine interferon-alpha on fertility in ewes. *Theriogenology* 1991;36:231-239.
103. Vallet JL, Bazer FW, Fliss MFV, Thatcher WW. Effect of ovine conceptus secretory proteins and purified ovine trophoblast protein-1 on interoestrous interval and plasma concentrations of prostaglandins-F2 $\alpha$  and E and 13,14-dihydro-15-keto prostaglandin F-2 $\alpha$  in cyclic ewes. *J Reprod Fert* 1988;84:493-504.
104. Roberts RM. Conceptus interferons and maternal recognition of pregnancy. *Biol Reprod* 1989; 40:449-452
105. Flint APF, Stewart HJ, Lamming GE, Payne JH. Role of the oxytocin receptor in the choice between cyclicity and gestation in ruminants. *J Reprod Fert* 1992;45 53-58. Suppl
106. Newton GR, Martinod S, Hansen PJ, Thatcher WW, Siegenthaler B, Gerber C, Voiro MJ. Effect of bovine interferon on acute changes in body temperature and serum progesterone concentration in heifers. *J Dairy Sci* 1990;73:3439-3448.
107. Salamonsen LA, Cherry RA, Findlay JK. In-vitro studies of the effects of interferons on endometrial metabolism in sheep. *J Reprod Fert* 1991;43 27-38. Suppl.
108. Gimenez T, Henricks DM. Prolongation of the luteal phase by prostaglandin E2 during the estrus cycle in the cow. A preliminary report. *Theriogenology* 1983;19:693-700.
109. Rowson LEA, Moor RM. Embryo transfer in the sheep: the significance of synchronizing oestrus in the donor and recipient animal. *J Reprod Fert* 1966,11:207-212.
110. Rowson LEA, Lawson RAS, Moor RM, Baker AA. Egg transfer in the cow. synchronization requirements. *J Reprod Fert* 1972;26 427-431.
111. Maurer RR, Echterkamp SE. Hormonal asynchrony and embryonic development. *Theriogenology* 1982;17:11-22.
112. Albinh A, Gustafsson H, Rodriguez-Martinez H. Maternal influence on the early development of asynchronously transferred bovine embryos. *Anim Reprod Sci* 1991;24:25-35.
113. Kunkel RN, Stricklin R. Donor-recipient asynchrony, stage of embryo development and the post-transfer survival of bovine embryos. *Theriogenology* 1978;9 96.
114. Drost M, Tan HS, McMillan KL, Thatcher WW. Successful asynchronous embryo transfer in cattle. *Theriogenology* 1989;31:186
115. Bard DT, Campbell BK, Mann GE, McNeilly AS. Inhibin and oestradiol in the control of FSH secretion in the sheep. *J Reprod Fert* 1991;43:125-138. Suppl.
116. Darga NC, Reichert JR. Some properties of the interaction of follicle stimulating hormone with bovine granulosa cells and its inhibition by follicular fluid. *Biol Reprod* 1978;19:235-241.
117. Sato E, Ishibashi T, Iritani A. Purification and action sites of a follicle stimulating hormone inhibitor from follicular fluid. *J Anim Sci* 1982;55:873-877.
118. Henderson KM, Prisk MD, Hudson N, Ball K, McNatty KP, Lun S, Heath D, Kieboom LE, McDiarmid J. Use of bovine follicular fluid to increase ovulation rate or prevent ovulation in sheep. *J Reprod Fert* 1986; 76:623-635.

119. De Jong FH. Inhibin- Its nature, site of production and function. *Oxford Reviews of Reproductive Biology* 1987;9:2-53.
120. Knight PG. Identification and purification of inhibin and inhibin-related proteins. *J Reprod Fert* 1991; 43:111-123. Suppl.
121. Knight PG, Wrathall JHM, Glencross RG, McLeod BJ. Effects of bovine follicular fluid on the secretion of LH and FSH in inhibin-immunized seasonally anoestrous ewes. *J Endocrinol* 1991;128:403-410.
122. Findlay JK, Tsonis CG, Staples LD, Cahill NP. Inhibin secretion by the sheep ovary. *J Reprod Fert* 1986;76:751-761.
123. Kretser DM, Robertson DM. The isolation and physiology of inhibin and related proteins. *Biol Reprod* 1989;40:33-47.
124. Campbell BK, Mann GE, McNeilly AS, Baird DT. Pulsatile secretion of inhibin, oestradiol and androstenedione by the ovary of the sheep during the oestrous cycle. *J Endocrinol* 1990;126:385-393.
125. Roser JF, McCue PM, Hoye E. Inhibin activity in the mare and stallion. *Dom Anim Endocrinol* 1994; 11(1):87-100.
126. Davis SR, Krosowski Z, McLahian IR, Burger HG. Inhibin gene expression in the human corpus luteum. *J Endocrinol* 1987;115:R21-R23.
127. Tsonis CG, Hillier SG, Baird DT. Production of inhibin bioactivity by human granulosa-lutein cells: stimulation of LH and testosterone in vitro. *J Endocrinol* 1987;12:R11-R14.
128. Fraser HM, Robertson DM, De Kretser DM. Immunoreactive inhibin concentrations in through the menstrual cycle of the macaque: suppression of inhibin during the luteal phase after the treatment with an LHRH antagonist. *J Endocrinol* 1989;121:R9-R12.
129. Smith KB, Millar MR, McNeilly AS, Illingworth PJ, Fraser HM, Baird DT. Immunocytochemical localization of inhibin alpha-subunit in the human corpus luteum. *J Endocr* 1991;129:155-160.
130. Baird DT, Campbell BK, Mann GE, McNeilly AS. Inhibin and oestradiol in the control of FSH secretion in the sheep. *J Reprod Fert* 1991;43:125-138. Suppl.
131. Tsonis CG, Quigg H, Lee VWK, Leversha L, Trounson AO, Findlay JK. Inhibin in individual ovine follicles in relation to diameter and atresia. *J Reprod Fert* 1983;67:83-90.
132. Lincoln GA, McNeilly AS. Inhibin concentrations in the peripheral blood of rams during a cycle in testicular activity induced by changes in photoperiod or treatment with melatonin. *J Endocrinol* 1989;120: R9-R13.
133. Tilbrook AJ, De Kretser DM, Clarke IJ. Studies on the testicular source of inhibin and its route of secretion in rams: failure of the Leydig cell to secrete inhibin in response to a human chorionic gonadotrophin/LH stimulus. *J Endocrinol* 1991;130:107-114.
134. Clarke IJ, Tilbrook AJ, Galloway DB, Earl CR, Findlay JK, De Kretser DM. Inhibin in rams. *J Reprod Fert* 1991;43:163-170. Suppl.
135. Martin GB, Price CA, Thiéry JC, Webb R. Interactions between inhibin, oestradiol and progesterone in the control of gonadotrophin secretion in the ewe. *J Reprod Fert* 1988;82:319-328.
136. Mann GE, Campbell BK, McNeilly AS, Baird DT. Effects of passively immunizing ewes against inhibin and oestradiol during the follicular phase of the oestrous cycle. *J Endocrinol* 1990;125:417-424.
137. Mann GE, McNeilly AS, Baird DT. Hormone production in vivo and in vitro from follicles at different stages of the oestrous cycle in the sheep. *J Endocrinol* 1992;132:225-234.

- 138 Mann GE, Campbell BK, McNeilly AS, Baird DT. The role of inhibin and oestradiol in the control of FSH secretion in the sheep. *J Endocrinol* 1992;133:381-391
- 139 Price CA. The control of FSH secretion in the larger domestic species. *J Endocrinol* 1991;131:177-184
- 140 Henderson KM, Franchimont P, Charlet-Renard C, McNatty KP. Effect of follicular atresia on inhibin production by bovine granulosa cells in vitro and inhibin concentrations in the follicular fluid. *J Reprod Fert* 1984;72:1-8.
- 141 McNeilly AS, Picton HS, Campbell BK, Baird DT. Gonadotrophic control of follicle growth in the ewe. *J Reprod Fert* 1991;43:177-186. Suppl
- 142 Mann GE, Campbell BK, McNeilly AS, Baird DT. Passively immunizing ewes against inhibin during the luteal phase of the oestrous cycle raises the plasma concentration of FSH. *J Endocrinol* 1989;123:383-391
143. Taya K, Kaneko H, Watanabe G, Sasamoto S: Inhibin and secretion of FSH in oestrous cycles of cows and pigs. *J Reprod Fert* 1991;43:151-162.
- 144 Findlay JK, Clarke IJ, Luck MR, Rodgers RJ. Peripheral and intragonadal actions of inhibin-related peptides. *J Reprod Fert* 1991;43:139-150. Suppl
145. Burger HG. Inhibin: definition and nomenclature, including related substances. *J Endocrinol* 1988; 117:150-160.
146. McNeilly AS, Baird DT. Episodic secretion of inhibin into the ovarian vein during the follicular phase of the oestrous cycle in the ewe. *J Endocrinol* 1989;122:287-292.
- 147 Hamada T, Watanabe G, Kokuho T, Taya K, Sasamoto S, Hasegawa W, Miyamoto K, Igarashi M. Radioimmunoassay of inhibin in various mammals. *J Endocrinol* 1989;122:697-704.
- 148 Bergfelt DR, Mann BG, Schwartz NB, Ginther OJ. Circulating concentrations of immunoreactive inhibin and FSH during the estrous cycle of mares. *J Equine Vet Sci* 1991;11:319-322.
- 149 Robertson DM, Farnworth PG, Clarke L, Jacobsen J, Cahir NF, Burger HG, De Kretser DM. Effects of bovine 35 kDa FSH-suppressing protein on FSH and LH in rat pituitary cells in vitro: comparison with bovine 31 kDa inhibin. *J Endocrinol* 1990;124:417-423.
150. Quirk SM, Fortune JE. Plasma concentrations of gonadotrophins, preovulatory follicular development and luteal function associated with bovine follicular fluid-induced delay of oestrus in heifers. *J Reprod Fert* 1986;76:609-621.
- 151 Medhamurthy R, Carruthers TD, Manns JG. Effects of bovine follicular fluid inhibin on serum gonadotrophin concentrations in ewes during oestrous. *J Reprod Fert* 1987;81:91-98.
152. Baird DT, Campbell BK, McNeilly AS. Ovine follicular fluid suppresses the ovarian secretion of androgens, oestradiol and inhibin. *J Endocrinol* 1990;127:23-32.
153. McNeilly AS, Picton HM, Campbell BK, Baird DT. Gonadotrophic control of follicle growth in the ewe. *J Reprod Fert* 1991;43:177-186. Suppl.
154. García AA, Valencia MJ, Hernández CJ. Efecto del líquido folicular equino libre de esteroides sobre la tasa de ovulación en ovejas Rambouillet. Memorias de la XXXIII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria; 1997 noviembre 3-8; Veracruz (Veracruz) México. 1997.136.

- 155 Al-Obaidi SAR, Bindon BM, Hillard MA, O'Shea T. Reproductive characteristics of lambs actively immunized early in life with inhibin-enriched preparations from follicular fluid of cows. *J Reprod Fert* 1987, 81 403-414.
- 156 Findlay JK. An update on the roles of inhibin, activin, and follistatin as local regulators of folliculogenesis. *Biol Reprod* 1993;48:15-23.
- 157 Lussier JG. Modulation of ovarian follicular development in cattle by gonadotropins and bovine follicular fluid (doctoral thesis). Saskatchewan, Canada: University of Saskatchewan, 1989.
- 158 McNeilly AS, Swanston IA, Crow W, Tsonis CG, Baird DT. Changes in the plasma concentrations of inhibin throughout the normal sheep oestrous cycle and after the infusion of FSH. *J Endocr* 1989;120: 295-305
159. Vosniakou A, Karagiannidis A, Liberopoulos A, Koptopoulos G, Tsakalof P. Ovulation and lambing rates in Karaguniki ewes after treatment with follicular fluid. *Theriogenology* 1991;35:785-798.
160. Wallace JM, McNeilly AS, Baird DT. Ovulation rate and embryo survival in Damline ewes after treatment with bovine follicular fluid in the luteal phase of the oestrous cycle. *J Reprod Fert* 1985;75:101-109.
- 161 McNeilly AS, Crow W, Campbell BK. Effect of follicular fluid and inhibin immunoneutralization on FSH-induced preovulatory follicle growth in the ewe. *J Endocrinol* 1991;131:401-409.
162. Forage RG, Brown RW, Oliver KJ, Atrache BT, Devine PL, Hudson GC, Goss NH, Bertram KC, Tolstoshev F, Robertson DM, Kretser DM, Doughton B, Burger HG, Findlay JK. Immunization against an inhibin subunit produced by recombinant DNA techniques results in increased ovulation rate in sheep. *J Endocrinol* 1987;114:R1-R4.
163. Findlay JK, Doughton B, Robertson DM, Forage RG. Effects of immunization against recombinant bovine inhibin alpha subunit on circulating concentrations of gonadotrophins in ewes. *J Endocrinol* 1989;120:59-65.
164. Martin GB, Taylor PL, McNeilly AS. Effect of small doses of bovine follicular fluid on the tonic secretion of gonadotrophins in the ewe. *J Endocrinol* 1987;114:73-79.
165. McLeod BJ, Hunter MG, Bleach EC, Glencross RG, Wrathall JHM. Preovulatory follicle development and luteal function in ewes immunized against a synthetic peptide sequence of bovine inhibin. *J Reprod Fert* 1991;43:171-173. Suppl.
166. Boland MP, Sunderland SJ, Williams DH, Kane M, Headon DR, Roche JF. Effect of immunization of ewes against alpha 1-26 inhibin fragment on antibody titres, ovulation and lambing rate. *Anim Reprod Sci* 1994;34:241-251.
- 167 Miller KF, Critser JK, Rowe RF, Ginther OJ. Ovarian effects of bovine follicular fluid treatment in sheep and cattle. *Biol Reprod* 1979,21:537-544.
168. Wallace JM, Martin GB, McNeilly AS. Changes in the secretion of LH pulses, FSH and prolactin during the preovulatory phase of the oestrous cycle of the ewe and the influence of treatment with bovine follicular fluid during the luteal phase. *J Endocrinol* 1988,116:123-135.
169. Larson G, Mallory DS, Dailey RA, Lewis PE. Gonadotropins concentrations, follicular development, and luteal function in pituitary stalk-transected ewes treated with bovine follicular fluid. *J Anim Sci* 1991;69: 4104-4111.
- 170 Miller KF, Wesson JA, Ginther OJ. Changes in concentrations of circulating gonadotropins following administration of equine follicular fluid to ovariectomized mares. *Biol Reprod* 1979;21:867-872.

171. Bergfelt DR, Ginther OJ. Delayed follicular development and ovulation following inhibition of FSH with equine follicular fluid in the mare. *Theriogenology* 1985;24:99-108.
172. Bernal SG. Avances en Producción de Leche. La Somatotropina. *Vet Méx* 1990;4:409-414.
173. Dellacha JM, Santome JA, Faiferman L. Molecular weight of bovine growth hormone. *Experientia* 1966;22:16-17.
174. Kopchick JJ, Cioffi JA. Exogenous and endogenous effects of growth hormone in animals. *Livestock Prod Sci* 1991, 27:61-75.
175. Palmiter RD, Norstedt G, Gelinas RE, Hammer RE, Brinster RL. Metallothionein-human GH fusion genes stimulate growth of mice. *Science* 1983, 222:809-814.
176. Martin CR. *Textbook of Endocrine Physiology*. Oxford University press. New York, 1976
177. McCutcheon SN, Bauman DE. Effect of pattern of administration of bovine growth hormone on lactational performance of dairy cows. *J Dairy Sci* 1986; 69:38.
178. Stanko RL, Armstrong JD, Covich WS, Harvey RW, Simpson RB, Hartnell GF, Heimer EP, Campbell RM. Effect of daily replacement therapy with recombinant somatotropin on somatotropin, insulin-like growth factor-I and onset of puberty in beef heifers immunized against growth hormone-releasing factor. *J Anim Sci* 1994, 72:1786-1794.
179. Van der Walt JG. Somatotropin physiology. A review. *South African Tydskrif* 1994;24:1-16.
180. Hall JB, Schillo KK, Fitzgerald BP, Bradley NW. Effects of recombinant bovine somatotropin and dietary energy intake on growth, secretion of luteinizing hormone, follicular development, and onset of puberty in beef heifers. *J Anim Sci* 1994; 72:709-718.
181. Lucy MC, Collier RJ, Kitchell ML, Dibner JJ, Hauser SD, Krivi GG. Immunocitochemical and nucleic acid analysis of somatotropin receptor population in the bovine ovary. *Biol Reprod* 1993; 48:1219-1227.
182. Eckery DC, Moeller CL, Nett TM, Sawyer HR. Recombinant bovine somatotropin maintains the sensitivity of ovarian follicles to gonadotropins in hypophysectomized ewes. *Biol Reprod* 1993;143. Suppl 1.
183. Gong GJ, Bramley AT, Wilmot I, Weeb R. Effect of recombinant bovine somatotropin on the superovulatory response to pregnant mare serum gonadotropin in heifers. *Biol Reprod* 1993;48:1141-1149.
184. De la Sota RL, Lucy MC, Staples CR, Thatcher WW. Effect of recombinant bovine somatotropin on ovarian function in lactating and nonlactating dairy cows. *J Dairy Sci* 1993; 76:1002-1013.
185. Lucy MC, Curran TL, Collier RJ, Cole WJ. Extended function of the corpus luteum and earlier development of the second follicular wave in heifers treated with bovine somatotropin. *Theriogenology* 1994;41:561-572.
186. Schemm SR, Deaver DR, Griel LC, Muller LD. Effect of recombinant bovine somatotropin on luteinizing hormone and ovarian function in lactating dairy cows. *Biol Reprod* 1990;42:815-821.
187. Gallo GF, Block E. Effects of recombinant bovine somatotropin on nutritional status and liver function of lactating dairy cows. *Can J Anim Sci* 1991;71:343-353.
188. Lucy MC, Thatcher WW, Collier JR, Simmen FA, Ko Y, Savio JD, Badinga L. Effect of somatotropin in the conceptus, uterus and ovary during maternal recognition of pregnancy in cattle. *Domestic Anim Endocrinol* 1995;12:73-82.

- 189 Rosas J, Zarco L, Valencia J. Efecto de un tratamiento corto de somatotropina bovina recombinante (rbST) sobre la función lútea y el desarrollo embrionario temprano en la oveja superovulada. *Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria*; 1995 noviembre 21-22; México. México (DF): SAGAR, UACH, Paieperme, CP, UNAM FMVZ.FESC.. *Vet Méx* 1995;26:338 (Suppl. 2).
190. Hill DJ Growth factors and their cellular actions. *J Reprod Fert* 1989;85:723-734.
191. Ko Y, Young C, Ott TL, Davis MA, Bazer FW, Simmen FA. Insuline-like growth factors in sheep uterine fluids: concentrations and relationship to ovine trophoblast protein-1 production during early pregnancy. *Biol Reprod* 1991;45:135-142.
192. Simmen RCM, Ko Y, Simmen FA. Insulin-like growth factors and blastocyst development. *Theriogenology* 1993;39:163-175.
193. Armstrong TD, Xia P. Differential mitogenic actions of insulin-like growth factor-I and follicular stimulating hormone on bovine cumulus cells and granulosa cells. *Theriogenology* 1993;39:181.
194. Leewenberg BR, Hurst P, McNatty KP. Expression of insulin-like growth factor-I in the sheep ovary. *Biol Reprod* 1993; 184. Suppl 1.
- 195 Hofig A, Simmen FA, Bazer FW, Simmen RCM. Effects of insulin-like growth factor-I on aromatase cytochrome P450 activity and oestradiol biosynthesis in preimplantation porcine conceptus in vitro. *J Endocrinol* 1991;130:245-250.
196. Letcher R, Simmen RCM, Bazer FW, Simmen FA. Insulin-like growth factor-I gene expression during early conceptus development in the pig *Biol Reprod* 1989; 41:1143-1151.
197. Geisert RD, Lee CY, Simmen FA, Zavy MT, Fliss AE, Bazer FW, Simmen RCM. Expression of mesenger RNAs encoding insulin-like growth factor-I,II and insulin-like growth factor binding protein-2 in bovine endometrium during the estrous cycle and early pregnancy. *Biol Reprod* 1991;45:975-983.
- 198 Tilly JL, Furuta I. A role for IGF-I in follicular stimulant hormone-mediated suppression of apoptosis in cultured rat ovarian follicles. *Biol Reprod* 1993;99. Suppl 1.
- 199 Webb R, Gong JG, Bramley TA. Role of growth hormone and intrafollicular peptides in follicle development in cattle. *Theriogenology* 1993;41:25-30.
200. Rechler MM. Molecular insights into insulin-like growth factor biology. *J Anim Sci* 1988;66:76-183. Suppl 2.
201. Bauman DE, Currie WB. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis *J Dairy Sci* 1980; 63:1515-1529.
202. Beerman DH, Hogue DE, Fishell VK, Dickson HW, Aronica S, Dwyer D, Schricker BR. Effects of exogenous ovine growth hormone (oGH) and human growth hormone releasing factor (hGRF) on plasma oGH concentration and composition of gain in lambs. *J Anim Sci* 1988;66:282-283. Suppl 1.
203. Wise DF, Kensingler RS, Harpster HW, Schncker BR, Carbaugh DE. Growth performance and carcass merit of lambs treated with growth hormone releasing factor (GRF) or somatotropin (ST). *J Anim Sci* 1988;66:275. Suppl 1.
204. Heird CE, Hallford DM, Spoon RA, Holcombe DW, Pope TC, Olivares VH, Herring MA. Growth and hormone profiles in fine-wool ewe lambs after long-term treatment with ovine growth hormone. *J Anim Sci* 1988;66:201. Suppl 1.
- 205 Sandles LD, Peel CJ. Growth and carcass composition of pre-pubertal dairy heifers treated with bovine growth hormone *Anim Prod* 1987;44:21-27

- 206 Machlin LJ Effect of porcine growth hormone on growth and carcass composition of the pig. *J Anim Sci* 1972;35:794-800.
- 207 Campbell RG, Steele NC, Caperna TJ, McMurtry JP, Solomon MB, Mitchell AD. Interrelationships between energy intake and exogenous porcine growth hormone administration on the performance, body composition and protein and energy metabolism of growing pigs weighing 25 to 55 kilograms body weight. *J Anim Sci* 1988;66:1643-1655.
208. McLaughlin CL, Baile CA, Shun-Zhang Q, Lian-Chun W, Jin-Pu X. Responses of Beijing black hogs to porcine somatotropin *J Anim Sci* 1989;67:116-127
209. Etherton TD, Wiggins JP, Evock CM, Chung CS, Rebhun JF, Walton PE, Steele NC. Stimulation of pig growth performance by porcine growth hormone determination of dose-response relationship. *J Anim Sci* 1987;64:433-443.
- 210 Evock CM, Etherton TD, Chung CS, Ivy RE. Pituitary porcine growth hormone (pGH) and a recombinant pGH analog stimulate pig growth performance in a similar manner. *J Anim Sci* 1988;66:1928-1941.
211. Bryan KA, Carbaugh DE, Clark AM, Hagen DR, Hammond JM. Effect of porcine growth hormone (pGH) on growth and carcass composition of gilts. *J Anim Sci* 1987;65:244. Suppl 1.
- 212 Peel CJ, Bauman DE Somatotropin and lactation. *J Dairy Sci* 1987; 70:474-486.
213. Chalupa W, Galligan DT Nutritional implications of somatotropin for lactating cows. *J Dairy Sci* 1989;72:2510-2524.
214. Davis SR, Collier RJ, McNamara JP, Head HH, Croon WJ, Wilcox CJ. Effects of thyroxine and growth hormone treatment of dairy cows on mammary uptake of glucose, oxygen and other milk fat precursors. *J Dairy Sci* 1988;66:80-89.
- 215 Akers RM *Lactogenic hormones: binding sites, mammary growth, secretory cell differentiation, and milk biosynthesis in ruminants.* *J Dairy Sci* 1985,68 501-519.
- 216 McDowell GH, Hart IC, Kirby AC. Local intra-arterial infusion of growth hormone into the mammary glands of sheep and goats: effects on milk yield and composition, plasma hormones and metabolites. *Aust J Biol Sci* 1987;40:181-189
217. Onan JM, Lee CS, Weiss LM, Brandon MR. The expression of a metallothionein-ovine growth hormone fusion gene in transgenic mice does not impair fertility but results in pathological lesions in the liver. *Endocrinology* 1989;124:455-463.
218. Quaife CJ, Mathews LS, Pinkert CA, Hammer RE, Brinster RL, Palmiter RD. Histopathology associated with elevated levels of growth hormone and insulin-like growth factor-I in transgenic mice. *Endocrinology* 1989;124:40-48.
- 219 Pursel VG, Pinkert CA, Miller KF, Bolt DJ, Campbell RG, Palmiter RD, Brinster RL, Hammer RE. Genetic engineering of livestock. *Science* 1989;244:1281-1288.
- 220 Wiegart M, Hoover JL, McGrain MM, Hanson RW, Rottman FM, Holtzman SH, Wagner TE, Pinkert CA. Production of transgenic swine harboring a rat phosphoenolpyruvate carboxykinase-bovine growth hormone fusion gene *J Reprod Fertil* 1990;89-96. Suppl 41.

# Efecto del líquido folicular equino y la somatotropina bovina en la sobrevivencia de embriones ovinos transferidos asincrónicamente

---

## Abstract

Maternal-embryonic asynchrony could be overcome by increasing progesterone (P4) levels to improve embryo development or by delaying luteolysis. With this aim, asynchronous recipients were treated with bovine somatotropin (ST) or equine follicular fluid (EFF). Six day embryos were collected from 25 donors. Estrus was synchronized with fluorogestone acetate and PGF2 $\alpha$ . Progestagen was removed in asynchronous recipients 3.5 days before donors. Recipients were allocated to 5 groups: synchronous (syn), n=15; asynchronous (asyn), n=16; asynchronous + EFF (asyneff), n=19; asynchronous + ST (asynst), n=7 and asynchronous + EFF + ST (asynfst), n=10. Progesterone levels were higher (3.3 ng/ml) in asyneff recipients ( $P < 0.05$ ), and the lowest levels (1.4 ng/ml) were found in asynst ones. Luteal phase was longer (16.8 days) in the non pregnant ewes of the asyn group. Luteolysis was delayed in 4 ewes of the asyneff until day 19. Pregnancy rate was not different between syn and asyn groups (86.6 vs. 68.7 %). Treatment with EFF and ST did not improve pregnancy rates in asynchronous recipients even when P4 levels were increased in pregnant asyneff and asynfst recipients or when luteolysis was delayed in the asyneff ones.

**Key words:** Ovine, Embryo transfer, Asynchronous, Equine follicular fluid, Bovine somatotropin.

## Resumen

La asincronía materno-embrionaria pudiera resolverse incrementando los niveles de progesterona (P4) para promover el desarrollo embrionario, o retrasando la luteólisis. Para tal fin se administró somatotropina bovina (ST), líquido folicular equino (LFE) o ambos, a receptoras de embriones en asincronía. Se recolectaron embriones en 25 donadoras el día 6 puestro. Las receptoras se sincronizaron con acetato de fluorogestona y PGF2 $\alpha$ , y en las asincrónicas de todos los grupos se retiró el progestágeno 3.5 días antes que en las donadoras. Se dividieron en cinco tratamientos: sincronía (sin), n=15; asincronía (asin), n=16; asincronía + LFE (asinlfe), n=19; asincronía + ST (asinst), n=7 y

asincronía+ LFE + ST (asinlfst), n=10. Las concentraciones de progesterona (3.3 ng/ml) fueron mayores en el grupo asinlfe ( $P<0.05$ ). Las menores concentraciones (1.4 ng/ml) se presentaron en el asinst. La fase lútea de mayor duración, 16.8 días promedio, se presentó en las no gestantes del grupo asin. En cuatro ovejas del asinlfe se retrasó la luteólisis hasta el día 19. La fertilidad del grupo sin (86.6 %) no fue diferente a la del asin (68.7 %). Los tratamientos no mejoraron la fertilidad a pesar de incrementarse la P4 en las gestantes asinlfe y asinlfst o retrasarse la luteólisis en las asinlfe. Se propone que antes de modificar la asincronía materno-embionaria se determine el grado de asincronía tolerable de manera natural en los ovinos.

**Palabras clave:** Ovinos, Transferencia embrionaria, Asincrónico, Líquido folicular equino, Somatotropina bovina.

## **Introducción**

Los eventos que permiten el reconocimiento de la gestación en la oveja tienen una relación cronológica precisa, ya que el útero está programado para establecer alrededor del día 14 o 15 del ciclo estral un patrón de secreción pulsátil y luteolítico de la prostaglandina F2 alfa ( $PGF2\alpha$ ), que origina una disminución en los niveles de progesterona, pasando de más de 1 ng/ml a menos de 0.2 ng/ml.<sup>1,2</sup> En la oveja gestante es necesario modificar la secreción de prostaglandina hacia un patrón no pulsátil, por lo que el embrión secreta alrededor del día 12 del ciclo, cantidades apreciables de interferón-tau ovino ( $oIFN-\tau$ ),<sup>3,4</sup> lo que constituye el mensaje más importante para el reconocimiento materno de la gestación.<sup>5</sup> Como el intervalo entre el momento en que se inicia la liberación luteolítica de  $PGF2\alpha$  por parte del útero y en que el embrión comienza a producir  $oIFN-\tau$  es corto, una de las causas más importantes de infertilidad en rumiantes es la asincronía entre estos eventos.<sup>5,6</sup> Esta asincronía materno-embionaria puede deberse tanto al adelanto en la liberación de  $PGF2\alpha$  como a un retraso en el desarrollo embrionario.<sup>7,8</sup>

Si se conocen los mecanismos de control endocrino de la secreción uterina de  $PGF2\alpha$ , se puede buscar inhibir el establecimiento de su patrón de secreción. La inhibición de la hormona foliculo estimulante (FSH) mediante inhibina<sup>9</sup> o preparaciones con alto contenido de ésta, permite retrasar el desarrollo folicular y la secreción de estradiol,<sup>10</sup> por lo que se puede esperar que también se retrase la

destrucción del cuerpo lúteo. Una forma de reducir la secreción de FSH es utilizar líquido folicular bovino, porcino, ovino<sup>11</sup> o equino,<sup>12</sup> libre de esteroides.

En anteriores trabajos se ha demostrado que el líquido folicular equino inhibe la secreción de FSH y el desarrollo folicular en ovejas.<sup>13</sup> También ha permitido alargar la vida de un cuerpo lúteo destinado a tener corta duración en ovejas en anestro estacional, inducidas a ovular con hCG<sup>14,15</sup> y ha retrasado la luteólisis en algunas ovejas a las que se les transfieren embriones en asincronía.<sup>16</sup>

Una relativa asincronía entre el ciclo estral de la donadora y la receptora es bien tolerada en las ovejas, ya que cuando existe una asincronía de hasta 48 horas, disminuye poco el porcentaje de fertilidad, en comparación con transferencias embrionarias realizadas en sincronía.<sup>17</sup> En cambio, cuando la asincronía entre la donadora y la receptora es de 72 horas o más, sólo un pequeño porcentaje de ovejas queda gestante (8%), a pesar de transferirse embriones con mayores posibilidades de sobrevivencia, como aquellos que son colectados entre los días 5 a 6 posestro y cuyo estadio de desarrollo correspondería al de mórula o blastocito, respectivamente.<sup>18,19</sup>

Cuando la asincronía materno-embriónica se ha tratado de resolver exclusivamente mediante el retraso de la regresión del cuerpo lúteo, ya sea con la administración de líquido folicular equino,<sup>16</sup> o utilizando inhibidores de la síntesis de prostaglandinas,<sup>20</sup> la sobrevivencia de embriones transferidos en asincronía no ha logrado mejorarse de manera significativa, lo que indicaría que no es suficiente el alargar la fase lútea para favorecer el reconocimiento de la gestación. Este hecho sugiere que, además de retrasar la regresión del cuerpo lúteo, sería necesario estimular el desarrollo embrionario con la finalidad de compensar el ambiente uterino inadecuado.

La administración de somatotropina bovina a hembras bovinas subfértiles aumenta las concentraciones de la progesterona circulante y provoca un aumento significativo en la fertilidad.<sup>21</sup> Estos efectos de la somatotropina son mediados principalmente por el factor de crecimiento parecido a la insulina-I (IGF-I),<sup>22</sup> y su administración estimula la actividad de la enzima aromatasa e incrementa la síntesis de esteroides como la progesterona.<sup>23,24</sup> Aunada al efecto de la somatotropina, la administración de líquido folicular equino en ovejas inducidas a ciclar con hCG o en ovejas ciclando incrementa los niveles plasmáticos de la progesterona,<sup>14,15,16</sup> por lo que, al reforzar la función del cuerpo lúteo, este efecto puede contribuir al mantenimiento de la gestación en ovejas receptoras de embriones.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la somatotropina bovina y del líquido folicular equino sobre las concentraciones de progesterona, la duración de la fase lútea y la fertilidad en hembras receptoras de embriones asincrónicos.

## Material y métodos

Este trabajo se realizó en el Centro de Enseñanza Práctica, Investigación y Extensión en Rumiantes (CEPIER), y en el Departamento de Reproducción de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). El CEPIER está ubicado en el km 29 de la Carretera Federal México Cuernavaca, Delegación Tlalpan, D.F. a 2760 msnm, 19° latitud norte y 99° longitud oeste. El clima de la región es de tipo c(w) (w) b (ij), que corresponde a semifrío-semihúmedo, con lluvias en verano y una precipitación pluvial de 800 a 1200 mm.

Se utilizaron 25 ovejas donadoras y 67 receptoras que se encontraban ciclando en plena época reproductiva. Para la sincronización del estro de las donadoras se usaron esponjas intravaginales,\* con 40 mg de FGA durante 12 días, y se superovularon con 200 UI de hormona foliculo estimulante.\*\*

Para detectar calores en las donadoras, se utilizaron dos veces al día, machos enteros cubiertos con un mandil, 24 horas después de retirar la esponja. A las que presentaron celo conductual (día 0 del ciclo estral) se les dio monta cada ocho horas mientras permanecieron receptivas.

La recolección de los embriones se realizó por laparotomía medio ventral el día 6 postservicio.<sup>25</sup> Los embriones colectados se evaluaron morfológicamente en un microscopio estereoscópico y se clasificaron de acuerdo a su calidad y grado de desarrollo.<sup>26</sup> Las mórulas y blastocitos calidad I o II se consideraron como embriones transferibles.<sup>27</sup>

Las ovejas receptoras se sincronizaron con 40 mg de FGA y dos días antes del retiro del progestágeno se les administraron 7.5 mg de PGF2 $\alpha$ \*\*\*, e inicialmente se dividieron al azar en dos grandes grupos; el primero quedó formado por 15 ovejas en sincronía (sin), con el ciclo estral de las donadoras y el segundo, por 52 hembras, en las que tanto la colocación de las esponjas vaginales

\* Chronogest, Intervet-México.

\*\* Pluset, Seroño-México.

\*\*\* Prosolvin, Seroño-México.

como su retiro se realizó 3.5 días antes que en las donadoras, con el objeto de asegurar una asincronía mínima de 3 días entre donadoras y receptoras. Las receptoras en asincronía se asignaron al azar a uno de cuatro tratamientos: grupo ASINCRÓNICO + LFE (asinlfe), integrado por 19 ovejas que recibieron 3 ml de líquido folicular equino cada 8 horas durante 10 días, iniciando un día después de la transferencia embrionaria (día 10); grupo ASINCRÓNICO + ST (asinst), formado con 7 ovejas a las que se les aplicaron 100 mg de somatotropina bovina los días 2 y 10 posestro; grupo ASINCRÓNICO + LFE + ST (asinlfst) con 10 ovejas, a las que se les administraron 100 mg de somatotropina bovina los días 2 y 10 posestro, más 3 ml de líquido folicular equino cada 8 horas durante 10 días, iniciando un día después de la transferencia de los embriones; grupo ASINCRÓNICO (asin), formado por 16 ovejas que no recibieron somatotropina ni líquido folicular. Las receptoras que al momento de la transferencia presentaron un cuerpo lúteo bien desarrollado, recibieron mediante laparoscopia 2 embriones mórulas o blastocitos transferibles provenientes de la misma donadora.<sup>25</sup>

En los tratamientos se utilizó somatotropina bovina<sup>†</sup> y líquido folicular equino. El líquido folicular equino (LFE) se aspiró de folículos ováricos de yeguas sacrificadas en un rastro local. Para su preparación, inicialmente se mezcló todo el líquido folicular recolectado y se sometió a una primera centrifugación a 2500 rpm durante 15 minutos a 4°C para eliminar los detritus celulares. Con la finalidad de remover las hormonas esteroides presentes en el líquido folicular, se añadió carbón activado (10 mg/ml) más dextran (0.1 mg/ml) y se agitó durante 1 hora a 25°C, el carbón activado más dextrán se retiró mediante centrifugación a 6000 rpm durante 30 minutos a 4°C. Finalmente, se añadió penicilina G sódica (100 UI/ml) para evitar la contaminación microbiana. El líquido folicular equino se mantuvo a -20°C hasta su utilización.<sup>28</sup> Se obtuvieron muestras de sangre de todas las receptoras durante 10 días, a partir del segundo día de la transferencia embrionaria (días 10 al 19 posestro en las asincrónicas). Para evaluar la función lútea se determinaron las concentraciones plasmáticas de progesterona. El diagnóstico de gestación de las receptoras transferidas se realizó mediante ultrasonografía de tiempo real durante los días 30 y 60 postservicio.<sup>29</sup>

<sup>†</sup> Lactotropina, Monsanto-México.

Las concentraciones diarias de progesterona (días 10 a 19) en las ovejas gestantes y no gestantes se calcularon mediante el método de cuadrados mínimos del procedimiento de modelos lineales generales, analizando en los modelos las variables tratamiento, día del ciclo y la interacción tratamiento-día del ciclo. Los valores de la progesterona entre los grupos se compararon mediante diferencia de medias (prueba de Bonferroni).<sup>30</sup>

En las ovejas no gestantes se midió la duración de la fase lútea, considerando el periodo en que los niveles de progesterona se mantuvieron superiores a 1.0 ng/ml. Este periodo se comparó entre tratamientos mediante la prueba de t. Se utilizó la prueba exacta de Fisher para comparar el efecto de los tratamientos sobre los porcentajes de fertilidad.<sup>31</sup>

## Resultados

En el Cuadro 1 se muestran las concentraciones promedio de la progesterona plasmática (ng/ml) obtenidas entre el día 10 y 19 puestro, tanto en gestantes como en no gestantes, según el resultado de la transferencia de embriones. Las concentraciones de progesterona ( $3.3 \pm 0.1$ ) fueron significativamente mayores ( $P < 0.05$ ) en el grupo en asincronía tratado con líquido folicular equino (asinlfe).

Este efecto se debió principalmente a los altos valores presentados por las ovejas gestantes de dicho grupo ( $4.3 \pm 0.2$ ), ya que en las ovejas vacías las concentraciones fueron similares ( $2.3 \pm 0.1$ ) a las de los grupos en asincronía (asin) ( $2.5 \pm 0.2$ ) y en sincronía (sin) ( $2.5 \pm 0.5$ ) que no recibieron tratamiento ( $P > 0.05$ ). Las menores concentraciones promedio de progesterona ( $1.4 \pm 0.2$ ) se presentaron en el grupo asincrónico tratado con somatotropina (asinst) tanto en las ovejas gestantes ( $2.1 \pm 0.3$ ) como en las no gestantes ( $0.6 \pm 0.2$ ). Similar comportamiento se presentó en las ovejas no gestantes del grupo asincrónico tratado con líquido folicular equino y somatotropina (asinlfst), ya que sus concentraciones de progesterona fueron de  $0.9 \pm 0.2$  ng/ml.

**Cuadro 1**

Concentraciones (promedio  $\pm$  e.e) de progesterona plasmática (ng/ml) en receptoras gestantes y no gestantes de los diferentes tratamientos

<i>Tratamiento</i>	<i>Gestantes</i>	<i>No gestantes</i>	<i>Promedio</i>
asinife	4.3 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup> (6)	2.3 $\pm$ 0.1 <sup>d</sup> (13)	3.3 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup> (19)
asin	3.3 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup> (11)	2.5 $\pm$ 0.2 <sup>cd</sup> (5)	2.9 $\pm$ 0.1 <sup>c</sup> (16)
sin	2.5 $\pm$ 0.1 <sup>cd</sup> (13)	2.5 $\pm$ 0.5 <sup>cd</sup> (2)	2.5 $\pm$ 0.2 <sup>cd</sup> (15)
asinlfst	3.9 $\pm$ 0.3 <sup>ab</sup> (2)	0.9 $\pm$ 0.2 <sup>f</sup> (8)	2.4 $\pm$ 0.2 <sup>cd</sup> (10)
asinst	2.1 $\pm$ 0.3 <sup>d</sup> (2)	0.6 $\pm$ 0.2 <sup>f</sup> (5)	1.4 $\pm$ 0.2 <sup>e</sup> (7)

a,b,c,d,e,f Valores con la misma literal no son diferentes (P>0.05)

En el Cuadro 2 se presentan las concentraciones diarias (días 10 a 19) de la progesterona plasmática de las ovejas gestantes en cada uno de los tratamientos. De manera general, las mayores concentraciones de progesterona se alcanzaron en los grupos en asincronía tratado con líquido folicular equino (asinife) y en asincronía tratado con líquido folicular y somatotropina bovina (asinlfst), esta tendencia se mantuvo del día 12 del ciclo estral hasta el día 19. Sin embargo, las diferencias entre grupos no fueron estadísticamente significativas en ninguno de los días (P>0.05).

**Cuadro 2**

Concentraciones diarias (promedio  $\pm$  e.e.) de progesterona (ng/ml) en las ovejas gestantes

<i>Día del ciclo</i>	<i>Tratamiento</i>				
	<i>asin (11)</i>	<i>asinife (6)</i>	<i>asinlfst (2)</i>	<i>asinst (2)</i>	<i>sin (13)</i>
10	1.92 $\pm$ 0.4	1.91 $\pm$ 0.60	1.56 $\pm$ 1.0	2.73 $\pm$ 1.0	1.18 $\pm$ 0.3
11	2.48 $\pm$ 0.4	3.35 $\pm$ 0.60	2.08 $\pm$ 1.0	2.06 $\pm$ 1.0	1.94 $\pm$ 0.3
12	3.50 $\pm$ 0.4	5.07 $\pm$ 0.60	4.12 $\pm$ 1.0	2.21 $\pm$ 1.0	2.52 $\pm$ 0.3
13	3.22 $\pm$ 0.4	4.72 $\pm$ 0.60	4.06 $\pm$ 1.0	2.35 $\pm$ 1.0	2.42 $\pm$ 0.3
14	3.20 $\pm$ 0.4	4.72 $\pm$ 0.60	4.74 $\pm$ 1.0	2.12 $\pm$ 1.0	2.52 $\pm$ 0.3
15	3.61 $\pm$ 0.4	5.22 $\pm$ 0.60	4.09 $\pm$ 1.0	1.90 $\pm$ 1.0	2.52 $\pm$ 0.3
16	4.10 $\pm$ 0.4	5.11 $\pm$ 0.60	5.15 $\pm$ 1.0	1.84 $\pm$ 1.0	3.02 $\pm$ 0.3
17	3.50 $\pm$ 0.4	5.01 $\pm$ 0.60	4.48 $\pm$ 1.0	1.97 $\pm$ 1.0	3.02 $\pm$ 0.3
18	3.55 $\pm$ 0.4	3.87 $\pm$ 0.60	4.16 $\pm$ 1.0	2.31 $\pm$ 1.0	2.89 $\pm$ 0.3
19	3.68 $\pm$ 0.4	4.31 $\pm$ 0.60	5.01 $\pm$ 1.0	1.94 $\pm$ 1.0	2.97 $\pm$ 0.3

No hay diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en ninguno de los días (P>0.05).

En la figura 1 se muestran las concentraciones de progesterona durante los días 10 a 19 posestro para algunas ovejas gestantes representativas de los diferentes tratamientos. Aunque las concentraciones fluctúan marcadamente entre animales y entre días, en todas las ovejas las concentraciones se mantienen superiores a 1 ng/ml durante el muestreo.

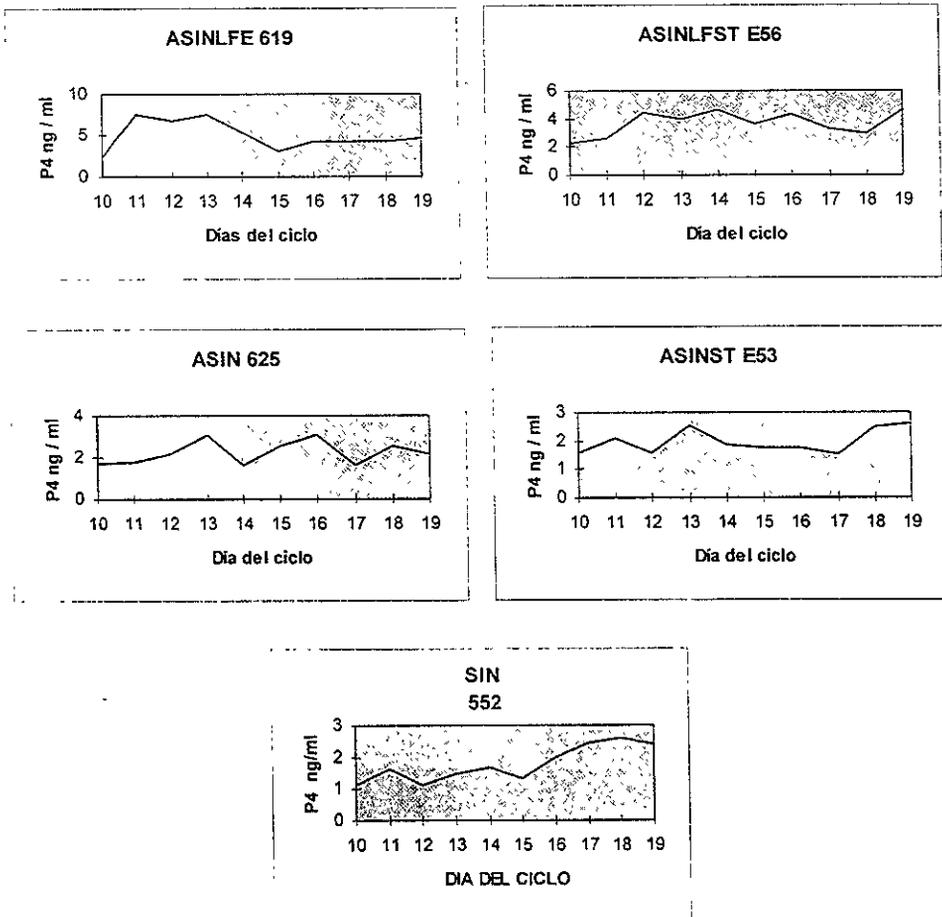


Figura 1. Concentraciones de P4 (ng/ml) en ovejas gestantes.

En el Cuadro 3 se presentan las concentraciones diarias (días 10 a 19) de la progesterona plasmática de las ovejas no gestantes en cada uno de los tratamientos. En general, las concentraciones de progesterona permanecieron superiores a 1 ng/ml en los grupos en asincronía tratado con líquido folicular equino (asinlfe) y en asincronía (asin), tendencia que se mantuvo en el grupo asinlfe durante los días 10 a 19, mientras que en el grupo asin, los niveles de P4 fueron inferiores a 1 ng/ml hasta el día 18

El grupo sin presentó en los días 13 y 14 las mayores concentraciones de P4 (5.30 y 6.10, respectivamente), siendo el valor del día estadísticamente diferente ( $P < 0.05$ ) al valor de los grupos asinlfe y asinlfst. Para el día 14 las concentraciones de P4 del grupo sin fueron estadísticamente diferentes a los de los grupos asinlfe, asinlfst y asinlfe, mientras que en el día 16 el valor de la progesterona plasmática del grupo asinlfst fue el menor ( $P < 0.05$ ).

**Cuadro 3**  
Concentraciones diarias (promedio  $\pm$  e.e.) de progesterona (ng/ml) en las ovejas no gestantes

Día del ciclo	Tratamiento				
	asin (5)	asinlfe (13)	asinlfst (8)	asinlfe (5)	sin (2)
10	1.51 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	1.65 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	1.04 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	1.39 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	1.04 $\pm$ 1.6 <sup>a</sup>
11	2.41 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	2.21 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	1.55 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	1.80 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	2.45 $\pm$ 1.6 <sup>a</sup>
12	3.49 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	3.20 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	2.27 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	1.24 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	3.40 $\pm$ 1.6 <sup>a</sup>
13	2.23 $\pm$ 0.7 <sup>ab</sup>	3.37 $\pm$ 0.4 <sup>b</sup>	1.87 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	0.85 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	5.30 $\pm$ 1.6 <sup>b</sup>
14	3.70 $\pm$ 0.7 <sup>ac</sup>	3.00 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	0.88 $\pm$ 0.5 <sup>b</sup>	0.23 $\pm$ 0.7 <sup>b</sup>	6.10 $\pm$ 1.6 <sup>c</sup>
15	2.65 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	2.38 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	0.48 $\pm$ 0.5 <sup>b</sup>	0.14 $\pm$ 0.7 <sup>b</sup>	2.20 $\pm$ 1.6 <sup>a</sup>
16	3.15 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	2.04 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	0.10 $\pm$ 0.5 <sup>b</sup>	0.12 $\pm$ 0.7 <sup>ab</sup>	2.50 $\pm$ 1.6 <sup>a</sup>
17	2.76 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	2.30 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	0.12 $\pm$ 0.5 <sup>ab</sup>	0.03 $\pm$ 0.7 <sup>b</sup>	0.85 $\pm$ 1.6 <sup>a</sup>
18	2.18 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	1.46 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	0.20 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	0.23 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	0.80 $\pm$ 1.6 <sup>a</sup>
19	0.52 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	1.13 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	0.09 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	0.22 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	0.77 $\pm$ 1.6 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup> Para un determinado día (renglón) los valores que no comparten literal son estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

En el Cuadro 4 se presenta la duración de la fase lútea en las ovejas no gestantes de los diferentes tratamientos, considerando los días en que los niveles de progesterona se mantuvieron superiores a 1.0 ng/ml. Las ovejas que presentaron el mayor periodo con cuerpo lúteo funcional (16.8 días en promedio) fueron las del grupo asin, y dicho valor fue estadísticamente diferente al de los grupos asinlfst y asinlfe. La menor duración de la fase lútea (12.4 días), correspondió al grupo asinlfe, sin ser diferente a la del grupo asinlfst.

**Cuadro 4**

Días promedio en que los niveles de progesterona de las ovejas no gestantes se mantuvieron superiores a 1 ng/ml.

<i>Tratamiento</i>	<i>n</i>	<i>Media ± d.e.</i>
asin	(5)	16.8 ± 2.7 <sup>a</sup>
asinlfe	(13)	16.4 ± 2.5 <sup>a</sup>
asinlfst	(8)	13.7 ± 1.1 <sup>bc</sup>
asinst	(5)	12.4 ± 0.9 <sup>b</sup>
sin	(2)	15.5 ± 0.7 <sup>ac</sup>

<sup>a,b,c</sup> Valores que comparten la misma literal no son estadísticamente diferentes ( $P > 0.05$ ).

En la Figura 2 se muestran las concentraciones de progesterona durante los días 10 a 19 postestro para algunas ovejas no gestantes en las que la regresión del cuerpo lúteo ocurrió alrededor de los días 13 a 15, equivalente a un ciclo estral normal.

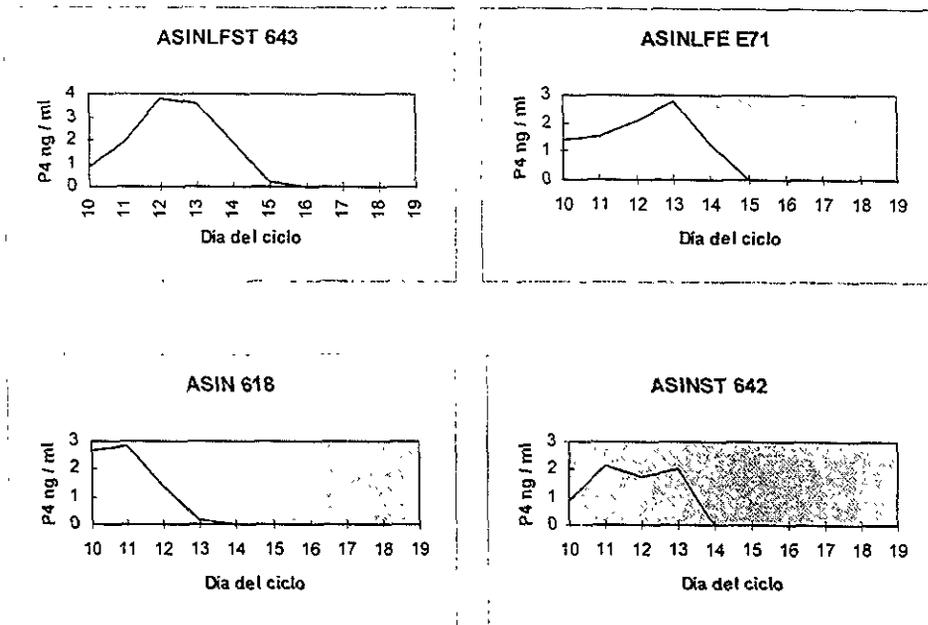


Figura 2. Concentraciones de P4 (ng/ml) en ovejas no gestantes que tuvieron una duración normal de la fase lútea.

En la Figura 3 se muestran las concentraciones de progesterona durante los días 10 a 19 postestro, para algunas ovejas no gestantes del grupo asinlfe. En estas ovejas los niveles de progesterona permanecieron superiores a 1 ng/ml mientras duró el muestreo, lo que indica una fase lútea de mayor duración a lo normal.

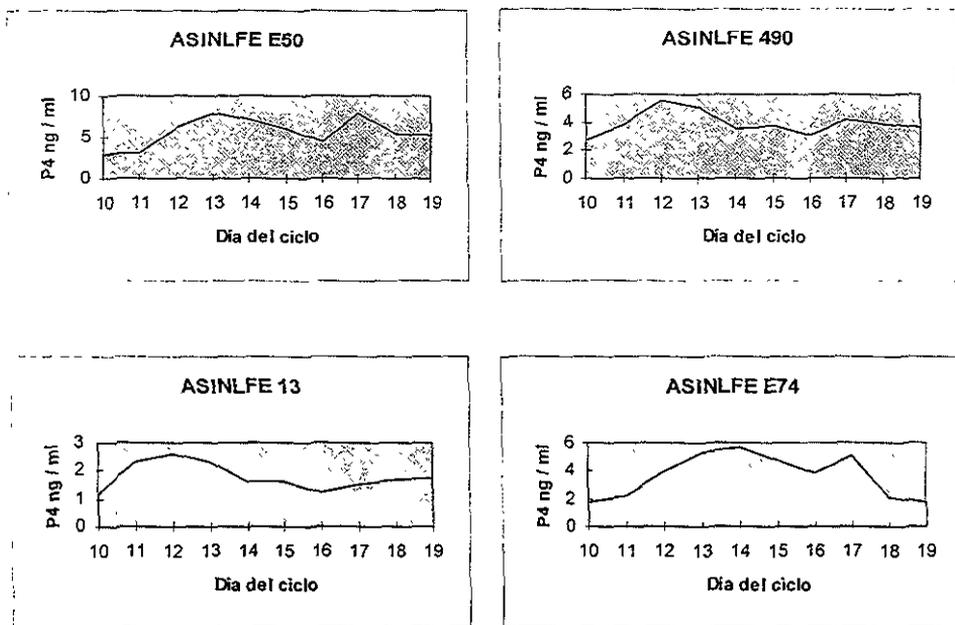


Figura 3. Concentraciones de P4 (ng/ml) en ovejas no gestantes del grupo asinlfe que mostraron retraso en la regresión del cuerpo lúteo.

En el Cuadro 5 se presenta el número de ovejas gestantes y no gestantes, así como el porcentaje de fertilidad por tratamiento. La mayor fertilidad correspondió al grupo sin (86.66%) y no fue estadísticamente diferente a la del grupo asin ( $P > 0.05$ ). La menor fertilidad se obtuvo en el grupo asinlft, pero dicha fertilidad no fue estadísticamente diferente a la de los grupos asinst y asinlfe ( $P > 0.05$ ).

**Cuadro 5**  
Número de ovejas gestantes y no gestantes de cada tratamiento  
y porcentajes de fertilidad

<i>Tratamiento</i>	<i>Gestantes</i>	<i>No gestantes</i>	<i>% de fertilidad</i>
sin	13	2	86.66 <sup>a</sup>
asin	11	5	68.75 <sup>ab</sup>
asinlfe	6	13	31.57 <sup>bc</sup>
asinst	2	5	28.57 <sup>bc</sup>
asinlfst	2	8	20.00 <sup>c</sup>

<sup>a,b,c</sup> Valores con la misma literal no son diferentes ( $P > 0.05$ )

## Discusión

### *Niveles de progesterona*

En diferentes trabajos realizados en bovinos se ha demostrado que la administración de somatotropina bovina favorece la función lútea e incrementa los niveles de progesterona, según la fase del ciclo estral en que se administre. Así, en hembras bovinas subfértiles, Morales <sup>21</sup> encontró que un tratamiento corto con somatotropina bovina, administrada al momento de la inseminación artificial, mejoró la fertilidad e incrementó las concentraciones de progesterona de las hembras tratadas.

Por su parte, Lucy *et al.* <sup>32</sup> encontraron que cuando la somatotropina se administra durante los primeros 9 días del ciclo estral, estimula el desarrollo del cuerpo lúteo y origina que incremente su tamaño, así como una producción de progesterona más alta. Este efecto se observó también cuando la somatotropina fue administrada entre el día 16 y 21 del ciclo, pero no cuando se administró entre los días 10 a 15. También se ha informado de incrementos en los niveles de la progesterona circulante, durante los dos ciclos estrales posteriores a la administración de somatotropina en vacas no gestantes, <sup>33,34</sup> y dicho efecto se mantiene incluso durante toda la gestación. <sup>34</sup> Sin embargo, Lucy *et al.* <sup>35</sup> encontraron que durante el reconocimiento de la gestación en vacas en lactación (alrededor del día 16 posestro), la administración de somatotropina incrementó el peso del cuerpo lúteo, pero no la producción de progesterona, ni modificó el desarrollo de los embriones colectados al día 17 posterior al estro.

Rosas *et al.*<sup>36</sup> encontraron que en ovejas donadoras de embriones tratadas con somatotropina bovina al momento de ser detectadas en estro, las concentraciones promedio de la progesterona plasmática fueron superiores a las de las ovejas no tratadas. Sin embargo, en el presente estudio las ovejas tratadas con somatotropina tuvieron las menores concentraciones promedio de progesterona (Cuadros 1, 2 y 3).

Lo anterior indica que tal como se ha informado en bovinos<sup>32</sup>, en los ovinos las concentraciones de progesterona se elevan cuando la somatotropina se administra al inicio del ciclo estral y no cuando se administra poco tiempo después del estro o a la mitad del ciclo, lo que podría sugerir que existe un mayor efecto sobre la formación del cuerpo lúteo que sobre su función esteroidogénica. Así, a diferencia del tratamiento en el día del estro realizado por Rosas *et al.*<sup>36</sup> en el presente trabajo la primera administración de somatotropina se realizó el día 2 y la segunda al día 10 postestro, sin que se incrementara la progesterona.

Por otra parte, en el presente trabajo tampoco pudo demostrarse que la administración de líquido folicular equino incrementa significativamente las concentraciones diarias de la progesterona en ovejas receptoras en asincronía. Sin embargo, las concentraciones promedio en las hembras gestantes de los grupos que recibieron líquido folicular (asinlfe y asinlfst) tendieron a ser mayores a las de las hembras gestantes de los demás grupos. Aunque estas concentraciones diarias no fueron estadísticamente diferentes, pudiera especularse que un embrión asincrónico transferido a una hembra que mantiene durante la gestación temprana altos niveles de progesterona tiene mayores probabilidades de sobrevivir, al ser estimulado su desarrollo y compensar su menor edad en relación con el útero al que es transferido. En este sentido, Ashworth y Bazer<sup>38</sup> demostraron que la administración de progesterona a hembras receptoras estimulan la síntesis de proteínas embrionarias que son diferentes a las sintetizadas por los embriones de las receptoras que no reciben progesterona. Además Geisert *et al.*<sup>39</sup> encontraron que la administración de progesterona a hembras receptoras provoca una aceleración del desarrollo embrionario y en el caso del bovino, la administración de progesterona a hembras transferidas en asincronía eleva los porcentajes de fertilidad hasta niveles cercanos a los logrados en las hembras en sincronía.

## ***Duración de la fase lútea en ovejas no gestantes***

En el presente trabajo la administración de líquido folicular equino provocó el alargamiento de la fase lútea en cuatro de las trece (30.76 %) ovejas no gestantes del grupo asinlfe (Figura 3). A pesar de que las diferencias entre los grupos asin y asinlfe no son significativas, estos resultados confirman los obtenidos en trabajos previos, en los que la administración de líquido folicular equino ha logrado retrasar la luteólisis en algunas ovejas a las que se les transfirieron embriones en asincronía,<sup>16</sup> así como en ovejas inducidas a ovular durante la época de anestro.<sup>14</sup>

Aún cuando se ha informado que la luteólisis se retrasa mientras se administra diariamente somatotropina bovina en vacas entre los días 10 a 19 del ciclo estral,<sup>32</sup> este retraso no se observó en el presente trabajo. Por el contrario, en las ovejas no gestantes de los dos grupos que recibieron somatotropina bovina (asinl y asinlft) la regresión del cuerpo lúteo ocurrió antes que en las ovejas de los otros grupos que no recibieron este tratamiento (Cuadros 3 y 4).

Este efecto detrimental de la somatotropina sobre la función lútea no se ha reportado en otros trabajos y es difícil de explicar. Referencias cercanas pero opuestas se tienen no sobre receptoras de embriones, sino en ovejas<sup>36</sup> y cabras<sup>37</sup> superovuladas donadoras de embriones, en las que la administración de somatotropina al momento del celo origina una menor o nula formación de cuerpos lúteos con regresión prematura. Esto señala que la somatotropina favorece el desarrollo y la ovulación de un mayor número de folículos, evita la persistencia de folículos anovulatorios y favorece la formación de cuerpos lúteos de buena calidad, que se mantienen produciendo concentraciones de progesterona superiores a 1 ng/ml hasta por lo menos el día en que son recolectados los embriones (día 6 posestro). De ahí que la administración de somatotropina, aún en el caso de realizarse después del estro como en el presente trabajo, si bien no favorece la función lútea tampoco debería afectarla negativamente.

## ***Fertilidad***

A pesar de que en algunas ovejas del grupo asinlfe se alargó la fase lútea, el porcentaje de fertilidad de las ovejas de este grupo no fue estadísticamente superior al de otros grupos, lo que indica que el alargar la fase lútea con el objeto de favorecer el reconocimiento de la gestación no es suficiente para lograr el establecimiento de los embriones asincrónicos. En este sentido, Odensvik y Gustafsson<sup>20</sup> encontraron

que en vacas a las que se les transfiere un embrión con 3 días de asincronía, la administración de flunixin meglumine, potente inhibidor de la síntesis de  $\text{PGF2}\alpha$ , retrasa la luteólisis y prolonga la vida del cuerpo lúteo. Sin embargo, aunque se permite el desarrollo y la sobrevivencia temporal de los embriones asincrónicos, éstos no tienen la capacidad para implantarse con éxito, por lo que puede pensarse que cuando los embriones son depositados en un útero asincrónico sufren un daño irreversible.

Existe evidencia de que un ambiente uterino de asincronía puede causar en forma inmediata alteraciones en el desarrollo embrionario. Así, en ovejas receptoras de embriones de 4 días de edad, que se encuentran en el día 1 o 2 postestro y a las cuales se les mantiene el cuerpo lúteo mediante hemihisterectomía, dichos embriones al ser colectados posteriormente, aparecen retrasados en su desarrollo y son incapaces de superar el estadio de blastocito temprano.<sup>40</sup> En cambio, embriones de 4 días de edad, transferidos a receptoras hemihisterectomizadas que se encuentran en el día 6 o 7 postestro, presentan un desarrollo acelerado que se mantiene hasta que el útero alcanza el día 12 de gestación, lo que significa que el útero produce señales que tratan de estimular al embrión asincrónico para que logre sincronizarse con el útero.

Sin embargo, a pesar de que el desarrollo acelerado parece ser un mecanismo para compensar la diferencia de edad entre el embrión y el útero, la mayoría de los embriones mueren posteriormente, lo que indica que ese desarrollo acelerado no es normal, aun cuando algunos de ellos son capaces de continuar creciendo hasta la cuarta semana de gestación, siempre y cuando el cuerpo lúteo se mantenga mediante la hemihisterectomía.<sup>40</sup> Por el contrario, cuando el cuerpo lúteo no es mantenido mediante hemihisterectomía, la mayoría de los embriones se pierden al ser destruidos cuando ocurre la regresión del cuerpo lúteo, y son expulsados del útero al iniciar el siguiente estro.<sup>40</sup>

Esto indicaría que en algunos casos el mantenimiento del cuerpo lúteo puede ayudar a que la gestación continúe, pero que en otros, el daño inicial sufrido por el embrión al ser transferido en condiciones de asincronía es irreversible. En el presente trabajo, los casos de las ovejas tratadas con líquido folicular equino en los que se presentó un alargamiento de la fase lútea y que finalmente no quedaron gestantes, podrían indicar la presencia de embriones que logran compensar durante algunos días un ambiente asincrónico desfavorable, y que sobreviven al reconocimiento de la gestación pero que posteriormente se mueren.

Las causas por las que mueren los embriones transferidos en asincronía son complejas y difíciles de explicar. Wilmut y Sales<sup>19</sup> encontraron que cuando se transfieren embriones de 3 o 6 días de edad a una primer receptora con 3 días de asincronía (día 6 ó 9 posestro, respectivamente), y se colectan tres días después, dichos embriones son aparentemente viables. De los embriones de 3 días de edad transferidos a una primer receptora en el día 6 posestro (asincronía), y posteriormente transferidos a una segunda receptora en el día 6 (sincronía), el 70 % llegaron a término. Sin embargo, la mayoría (86 %) de los embriones de 6 días de edad transferidos a una primera receptora en el día 9 posestro (asincronía), perdieron la capacidad de llegar a término, al ser nuevamente transferidos a una segunda receptora que también se encontraba en el día 9 (en sincronía). Esto indicaría que durante los tres días en que el embrión se encuentra en el útero asincrónico se produce una alteración que morfológicamente no es visible, pero que daña definitivamente al embrión. Además sugiere que los embriones de 3 días de edad son más resistentes al daño producido por una asincronía temporal, en comparación con los embriones de 6 días de edad. En un trabajo similar, Xueshi *et al*<sup>41</sup> transfirieron embriones de 6 días de edad a receptoras que se encontraban en el día 3 del ciclo, y al recolectarlos tres días después encontraron que el porcentaje de embriones viables era del 20%, por lo que al parecer, el ambiente uterino asincrónico afecta el desarrollo embrionario de diferente manera según la edad del embrión.

En el presente trabajo se encontró que las ovejas a las que se les transfirieron embriones de 6 días en sincronía (sin) tuvieron mayor fertilidad (86.66 %). Sin embargo, ésta no fue estadísticamente superior a la del grupo en asincronía (asin) (68.75 %). Los porcentajes de fertilidad entre los grupos asin, asinlf e y asinst no fueron estadísticamente diferentes, por lo que la fertilidad no se incrementó con ninguno de los tratamientos. De cualquier manera e independientemente del tratamiento, el número de hembras que quedaron gestantes en los grupos asincrónicos fue superior al esperado, ya que de acuerdo a la literatura cuando se transfieren embriones de 6 días de edad a receptoras con 72 horas de asincronía los porcentajes de fertilidad son muy bajos<sup>42</sup>. Así, Rowson y Moor<sup>18</sup> obtuvieron un 8 % de fertilidad al transferir embriones de 5 días de edad a receptoras que se encontraban en el día 2 u 8 posestro, mientras que Wilmut y Sales<sup>19</sup> transfirieron embriones de 6 días de edad a receptoras que se encontraban en el día 9 postestro (3 días de asincronía) y ninguno llegó a término.

En el presente trabajo, a pesar de utilizarse un estricto criterio de por lo menos 72 horas de asincronía entre el ciclo estral de las donadoras de los embriones y sus receptoras, se obtuvo un alto porcentaje de fertilidad en los grupos asincrónicos, que no coincide con lo reportado por otros autores.<sup>18,38</sup>

El hecho de haber transferido dos embriones a cada receptora no puede explicar la fertilidad obtenida en las ovejas asincrónicas, ya que tanto en los experimentos de Ashworth y Bazer<sup>38</sup> y Odensvik y Gustafsson,<sup>20</sup> en los que solamente se transfirió un embrión por receptora, como en los de Moore y Shelton,<sup>17</sup> Rowson y Moor<sup>18</sup> y Albinh *et al.*,<sup>43</sup> en donde se transfirieron 2 embriones por receptora, la fertilidad de los grupos en asincronía fue mucho menor que el de las receptoras sincrónicas. Es posible que el alto porcentaje de fertilidad obtenido en las ovejas en asincronía en el presente trabajo se deba, al menos en parte, a los progresos que se tienen actualmente en cuanto a la técnica de recolección, manejo y transferencia de embriones.

Con el objeto de poder utilizar en futuros experimentos el modelo de transferencia de embriones asincrónicos y evaluar los efectos de diferentes tratamientos sobre éste, se propone que antes se determine el grado de asincronía que los embriones ovinos toleran de manera natural, con los métodos modernos de transferencia.

## Referencias

1. Zarco QL, Stabenfeldt GH, Kindahl H, Quirke JF, Granstrom E. Persistence of luteal activity in the non-pregnant ewe. *Anim Reprod Sci* 1984;7:245-267.
2. Zarco QL, Stabenfeldt GH, Quirke JF, Kindahl H, Bradford GE. Release of prostaglandin F2 $\alpha$  and the timing of events associated with luteolysis in ewes with oestrous cycles of different lengths. *J Reprod Fertil* 1988;83:517-526.
3. Roberts RM, Scalue-Francis T. Maternal recognition of pregnancy and embryonic loss. *Theriogenology* 1990;33:175-183.
4. Roberts, RM, Leaman WD, Cross CJ. Role of interferons in maternal recognition of pregnancy in ruminants. *Soc Exp Biol Med* 1992;200:7-18.
5. Hunter MG. Characteristics and causes of the inadequate corpus luteum. *J Reprod Fertil* 1991;43:91-99 (Suppl.)
6. Garverick HA, Zollers WG, Smith MF. Mechanisms associated with corpus luteum lifespan in animals having normal or subnormal luteal function. *Anim Reprod Sci* 1992; 28: 111-124.

- 7 Thatcher WW, Bazer FW, Sharp DC, Roberts RM. Interrelationship between uterus and conceptus to maintain corpus luteum function during early pregnancy. sheep, cattle, pig and horses J Anim Sci 1986;67:47-61 (Suppl. 2).
- 8 Putney DJ, Malayer JR, Gross TS, Thatcher WW, Hansen PJ, Drost M. Heat stress-induced alterations in the synthesis and secretion of proteins and prostaglandins by cultured bovine conceptuses and uterine endometrium. Biol Reprod 1988;39 717-728
- 9 Burger HG. Inhibin. definition and nomenclature, including related substances. J Endocrinol 1988;17:150-160.
- 10 Baird DT, Campbell BK, Mann GE, McNeilly AS. Inhibin and oestradiol in the control of FSH secretion in the sheep. J Reprod Fert 1991;43:125-138 (Suppl )
- 11 Grootenhuys AJ, Steenberger J, De Jong FH. Inhibin and activin-like activity in fluids from male and female gonads: different molecular weight forms and bioactivity/immunoactivity ratios. J Endocrinol 1989;22:293-301.
- 12 Gremmes S. Sekretionsmuster der Gonadotropine nach hormoneller Intervention bei der Stute (doctoral dissertation) Hannover, Deutschland: Tierärztliche Hochschule, 1990.
- 13 Hernández J, Murcia C, Valencia J, Rojas S, Zárate J, Zarco L. Efecto del líquido folicular equino libre de esteroides sobre la secreción de FSH en ovejas en anestro y la presentación del estro inducido con PGF2 $\alpha$  en ovejas ciclando. Vet Méx 1997;28 117-122.
- 14 Balcázar A, Zarco L, Murcia M, Valencia J, Luyando C, Mejía O. Efecto del líquido folicular equino sobre la duración de la fase lútea en ovejas anéstricas inducidas a ovular con hCG. Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria;1995 noviembre 21-22, México. México (DF): SAGAR, UACH, Paiepeme, CP, UNAM.FMVZ.FESC. Vet Méx 1995;26:345 (Suppl. 2).
- 15 Zárate J. Efecto de la aplicación de líquido folicular equino libre de esteroides sobre la función lútea de ovejas en anestro estacional inducidas a ovular con hCG (tesis de maestría) México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM, 1996.
- 16 Mejía O, Balcázar J, Zarco L, Valencia J, Rojas S. Supervivencia de embriones ovinos transfendos en asincronía mediante la administración de líquido folicular equino. Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria; 1995 noviembre 21-22; México. México (DF). SAGAR, UACH, Paiepeme, CP, UNAM.FMVZ.FESC.. Vet Méx 1995;26:342 (Suppl. 2).
- 17 Moore NW, Shelton JN. Egg transfer in sheep. J Reprod Fert 1964;7:145-152.
- 18 Rowson LEA, Moor RM. Embryo transfer in the sheep: the significance of synchronizing oestrus in the donor and recipient animal. J Reprod Fert 1966;11:207-212.
- 19 Wilmut I, Sales DI. Effect of an asynchronous environment on embryonic development in sheep. J Reprod Fert 1981;61:179-184.
- 20 Odensvik K, Gustafsson H. Effect of flunixin during asynchronous embryo transfer in the heifer. Anim Reprod Sci 1994;36:13-24.
- 21 Morales S. Efecto de un tratamiento corto de rbST (Lactotropina) sobre la fertilidad de vacas Holstein repetidoras (tesis de maestría) México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1993.
- 22 Hill DJ. Growth factors and their cellular actions. J Reprod Fert 1989;85:723-734

23. Adashi EY, Resnick CE, Svoboda ME, Van Wyk JJ. Somatomedin-C enhances induction of luteinizing hormone receptors by follicle-stimulating hormone in cultured rat granulosa cells. *Endocrinology* 1985;116:2369-2375.
24. Carson RS, Zhang Z, Hutchinson LA, Herington AC, Findlay JK. Growth factors in ovarian function. *J Reprod Fert* 1989;85:735-746.
25. Mejía O, Balcázar A, Luyando C, Valencia J, Rojas S, Saharrea A, Caballero V, Cerbón J. Implementación de la transferencia de embriones en pequeños rumiantes. *Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria*; 1995 noviembre 21-22; México. México (DF): SAGAR, UACH, Paiepeme, CP, UNAM.FMVZ.FESC.. *Vet Méx* 1995;26:340 (Suppl. 2).
26. Wintenberger-Torres S, Sevellec C. Atlas of the early development of the sheep embryo. Paris, France: INRA Station de Physiologie Animale, 1992.
27. Ruttle J, Lucero S, Key S, Daniels M, Rodríguez F, Yin HS. Ovine estrus synchronization and superovulation using norgestomet B and follicle stimulating hormone-pituitary. *Theriogenology* 1988;30:421-427.
28. Lussier JG. Modulation of ovarian follicular development in cattle by gonadotropins and bovine follicular fluid (thesis for degree of Doctor Philosophy) Saskatchewan, Canada: University of Saskatchewan, 1989.
29. Bretzlaff K, Edwards J, Forrest D, Nuti L. Ultrasonographic determination of pregnancy in small ruminants. *Vet Med* 1993;1:12-24.
30. SAS Institute Inc. SAS/STAT (computer program) version 6.03. Cary (NC): SAS Institute Inc., 1991
31. Navarro FR. Introducción a la bioestadística. Análisis de variables binarias. México (DF): McGraw Hill, 1988.
32. Lucy MC, Curran TL, Collier RJ, Cole WJ. Extended function of the corpus luteum and earlier development of the second follicular wave in heifers treated with bovine somatotropin. *Theriogenology* 1994;41:561-572.
33. Schemm SR, Deaver DR, Griel LC, Muller LD. Effect of recombinant bovine somatotropin on luteinizing hormone and ovarian function in lactating dairy cows. *Biol Reprod* 1990;42:815-821
34. Gallo GF, Block E. Effects of recombinant bovine somatotropin on nutritional status and liver function of lactating dairy cows. *Can J Anim Sci* 1991;71:343-353.
35. Lucy MC, Thatcher WW, Collier JR, Simmen FA, Ko Y, Savio JD, Badinga L. Effect of somatotropin in the conceptus, uterus and ovary during maternal recognition of pregnancy in cattle. *Domestic Anim Endocrinol* 1995;12:73-82.
36. Rosas J, Zarco L, Valencia J. Efecto de un tratamiento corto de somatotropina bovina recombinante (rbST) sobre la función lútea y el desarrollo embrionario temprano en la oveja superovulada. *Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria*; 1995 noviembre 21-22; México. México (DF): SAGAR, UACH, Paiepeme, CP, UNAM.FMVZ.FESC.. *Vet Méx* 1995;26:338 (Suppl. 2).
37. Cerbón GJ. Efecto de la aplicación de somatotropina sobre la calidad embrionaria en cabras superovuladas con hormona folículo estimulante (tesis de maestría). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1999.
38. Ashworth CJ, Bazer FW. Changes in ovine conceptus and endometrial function following asynchronous embryo transfer or administration of progesterone. *Biol Reprod* 1989;40:425-433.

- 39 Geisert DR, Fox CT, Morgan LG, Wells EM, Wettemann PR, Zavy TM. Survival of bovine embryos transferred to progesterone-treated asynchronous recipients. *J Reprod Fert* 1991;92:475-482.
- 40 Lawson RAS, Parr RA, Cahill LP. Evidence for maternal control of blastocyst growth after asynchronous transfer of embryos to the uterus of the ewe. *J Reprod Fert* 1983;67:477-483.
- 41 Xueshi S, Thomson MR, Wilmot I. Effect of asynchrony between donor and recipient on embryo development in sheep. *Acta Agr Shanghai* 1989;5:1-7.
- 42 Wilmot I, Ashworth CJ, Springbett AJ, Sales DJ. Effect of variation in embryo stage on the establishment of pregnancy, and embryo survival and growth in ewes with embryos. *J Reprod Fert* 1988;83:233-237.
- 43 Albinh A, Gustafsson H, Rodríguez-Martínez H. Maternal influence on the early development of asynchronously transferred bovine embryos. *Anim Reprod Sci* 1991;24:25-35.

# Sobrevivencia de embriones ovinos transferidos a receptoras en asincronía

---

## Abstract

The experiment was done in order to try to determine the number of days of asynchrony that the ovine embryos tolerate, as well as the role of progesterone in their survival. For this were used 18 donors and 55 recipients. The donors were synchronized with fluorogestone acetate and were superovulated with follicle stimulant hormone, and the embryos were collected by laparotomy at day 6 postestrous. The embryos were transferred by laparoscopy to recipients synchronized with fluorogestone acetate and PGF2 $\alpha$ , which were allocated to 3 groups according to the day of the estrous cycle in which they were found: synchronous (syn, n=12), day 6 postestrous; asynchronous 3 (asyn3, n=21), day 9 postestrous; and asynchronous 4 (asin4, n=19), day 10 postestrous. Two embryos of excellent quality from the same donor, in the stage of morulae or blastocyst, were transferred to each recipient. The fertility of the group in synchrony (83.3%) was not different from that of group with 3 days of asynchrony (57.14%) ( $P>0.05$ ). The lower fertility (5.26%) was obtained in the group with 4 days of asynchrony. Blood samples of the recipients were obtained during days 10 to 21 postestrous to determine the plasmatic concentrations of progesterone, these being greater in the asynchronous recipients when compared with the synchronous ( $P<0.05$ ) ones. The embryos collected at day 6 that were transferred to recipients that were in day 9 postestrous, provoked an increase in their progesterone concentrations which could be associated with the embryos survival. The 4 days asynchrony originated a high embryonic mortality in spite of the increase in the concentrations of progesterone.

**Key words:** Ovine, Embryo transfer, Asynchronous, Progesterone

## Resumen

Para determinar el número de días de asincronía que toleran los embriones ovinos, así como el papel de la progesterona en su sobrevivencia, se utilizaron 18 donadoras y 55 receptoras. Las donadoras

fueron sincronizadas con acetato de fluorogestona y superovuladas con hormona folículo estimulante, realizándose la recolección de los embriones por laparotomía el día 6 posestro. Los embriones fueron transferidos laparoscópicamente a receptoras sincronizadas con acetato de fluorogestona y PGF2 $\alpha$ , divididas en tres grupos de acuerdo al día del ciclo estral en que se encontraban: sincrónicas (sin, n=12), día 6 posestro; asincrónicas 3 (asin3, n=21), día 9 posestro; y asincrónicas 4 (asin4, n=19), día 10 posestro. Se transfirieron a cada receptora 2 embriones, mórulas o blastocitos, de excelente calidad provenientes de la misma donadora. La fertilidad del grupo en sincronía (83.3%) no fue diferente a la del grupo con 3 días de asincronía (57.14%) ( $P>0.05$ ). La menor fertilidad (5.26 %) se obtuvo en el grupo con 4 días de asincronía. Se obtuvieron muestras de sangre de las receptoras durante los días 10 al 21 postestro para determinar las concentraciones plasmáticas de progesterona, siendo éstas mayores en las receptoras asincrónicas comparadas con las sincrónicas ( $P<0.05$ ). La transferencia de embriones recolectados el día 6 a receptoras que se encuentran en el día 9 posestro, provoca un incremento en sus concentraciones de progesterona que podría estar asociado con la sobrevivencia de los embriones. La asincronía de 4 días origina una alta mortalidad embrionaria a pesar del aumento en las concentraciones de progesterona.

**Palabras clave: Ovejas, Transferencia embrionaria, Asincronía, Progesterona.**

## **Introducción**

Desde mediados de los años sesenta se conoce que cuando se realizan transferencias de embriones en las ovejas, la mayor sobrevivencia se obtiene cuando las receptoras presentan estro no más de 12 horas antes o después que la donadora<sup>1,5,6,7,8</sup> y que al existir una asincronía de hasta 48 horas disminuye relativamente poco el porcentaje de fertilidad.<sup>6</sup> En cambio, cuando esta asincronía es de 72 horas o más, sólo un pequeño porcentaje de las receptoras ha quedado gestante.<sup>3,7</sup>

Sin embargo, en estudios recientes en donde se han utilizado 72 horas de diferencia entre el estro de la donadora y la receptora como modelos para estudiar la asincronía, se han obtenido porcentajes de fertilidad de entre 50 y 60 %, <sup>13,14</sup> razón por la cual es conveniente investigar cual es grado máximo de asincronía tolerado con las técnicas actuales usadas en la transferencia de embriones.

Existe evidencia directa que la tasa de desarrollo del embrión ovino puede ser alterada por el ambiente uterino. Mediante estudios en los cuales se ha realizado una segunda colección de embriones que fueron originalmente transferidos en condiciones de asincronía, se ha encontrado que los embriones que son transferidos a un ambiente uterino adelantado se desarrollan más rápido que los transferidos a un ambiente sincrónico, compensando así su retraso inicial. En contraste, aquellos embriones adelantados en relación con el útero al que son transferidos pueden retrasar su desarrollo.<sup>3,4,5</sup>

Se ha demostrado también que la inducción de elevadas concentraciones de progesterona, inmediatamente después de realizar la transferencia embrionaria, estimula el desarrollo embrionario<sup>9,10,11</sup> y promueve la síntesis de proteínas embrionarias diferentes a las sintetizadas por los embriones de las receptoras a las que no se les administra progesterona.<sup>12</sup> Esto sugiere que los embriones transferidos en asincronía lograrán establecerse en ovejas receptoras cuyas concentraciones circulantes de progesterona sean superiores al promedio.<sup>13,14</sup>

El objetivo del presente trabajo es comparar la fertilidad y la sobrevivencia embrionaria en ovejas que reciben embriones sincrónicos o con 3 y 4 días de asincronía. Además de comparar las concentraciones de progesterona de las hembras gestante y no gestantes en cada uno de los grupos.

## Material y métodos

Este trabajo se realizó en el Centro de Enseñanza Práctica, Investigación y Extensión en Rumiantes (CEPIER), y en el Departamento de Reproducción de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). El CEPIER está ubicado en el Km. 29 de la Carretera Federal México Cuernavaca, Delegación Tlalpan, D.F. a 2760 msnm, 19° latitud norte y 99° longitud oeste. El clima de la región es de tipo c(w) (w) b (ij), que corresponde a semifrío-semihúmedo, con lluvias en verano y una precipitación pluvial de 800 a 1200 mm.

Se utilizaron 18 ovejas donadoras y 55 receptoras que se encontraban ciclando en plena época reproductiva. Para la sincronización de las donadoras se usaron durante 12 días esponjas intravaginales,\* con 40 mg de acetato de fluorogestona (FGA). Para la superovulación se administraron un total de 200 UI de hormona foliculo estimulante,\*\* dividida en dos aplicaciones por día durante cuatro días, bajo el

\* Chronogest, Intervet-México

\*\* Pluset, Serono-México.

siguiente esquema: dos días antes de retirar la esponja se administraron dos dosis de 37.5 UI, un día antes y el día del retiro dos dosis de 25 UI en cada uno, y un día después de retirado el FGA, dos dosis de 12.5 UI. En las donadoras se detectaron calores dos veces al día, iniciando a las 24 horas de retirada la esponja y a las que presentaron celo conductual (día 0 del ciclo estral) se les dió monta cada ocho horas mientras permanecieron receptivas.

La recolección de los embriones se realizó el día 6 posterior al estro por laparotomía medio ventral. Para ello, se sometió a las donadoras a anestesia general: la tranquilización se hizo mediante la administración intramuscular de Xilazina al 2% (10 mg/50 kg de peso vivo) y como anestésico se utilizó Ketamina (2 mg/kg de peso vivo) por vía endovenosa. Se rasuró, lavó y desinfectó la región abdominal para posteriormente realizar una incisión de aproximadamente 5 cm de largo y 3 cm anterior a la ubre sobre la línea media. Se exteriorizó el útero y se observaron los ovarios para evaluar la respuesta a la superovulación. Después se lavó cada cuerno uterino utilizando una sonda de Foley (calibre 10G), que se introdujo en la base mediante una punción realizada con un catéter intravenoso (14Gx5½) para recuperar el medio de lavado. Posteriormente, a través de otro catéter intravenoso (18Gx1¼) insertado en la punta del cuerno uterino, se administraron 60 ml de solución Dulbecco modificada a la que se le agregó 0.4 % de albúmina sérica bovina y penicilina G sódica (100 UI/ml). El medio se colectó en un filtro concentrador. Concluida la recolección de los embriones, el útero se regresó a la cavidad abdominal y se suturó la incisión.

Las 55 ovejas receptoras se sincronizaron durante 12 días con 40 mg de FGA, y dos días antes del retiro del progestágeno se les administraron 7.5 mg de PGF<sub>2α</sub>\*\*\*. Para la formación de los grupos las receptoras se dividieron al azar en tres grupos: el primero formado por 12 ovejas en sincronía (sin) con el ciclo estral de las donadoras, de tal forma que en el día de la transferencia embrionaria se encontraban en el día 6 posestro; el segundo grupo integrado por 21 hembras, en las que tanto la colocación de las esponjas intravaginales como su retiro, se realizó 3.5 días antes que en las donadoras, con el objeto de asegurar una asincronía mínima de 3 días (asin3), de manera que al recibir embriones de 6 días de edad se encontraban en el día 9 posestro; y el tercer grupo formado con 19 ovejas, en las que las esponjas se

\*\*\* Prosolvin, Serono-México.

colocaron y retiraron 4.5 días antes que en las donadoras, asegurando que el día de la transferencia se encontraban en el día 10 posestro.

Las receptoras que presentaron un cuerpo lúteo bien desarrollado recibieron 2 mórulas o blastocitos<sup>15</sup> de excelente calidad (esféricos, simétricos y con células de color, tamaño y textura uniformes),<sup>16</sup> provenientes de la misma donadora. Para la transferencia, las ovejas se tranquilizaron con Xilazina intramuscular al 2% (10 mg/50 kg de peso vivo), y como anestésico se utilizó Ketamina (2 mg/kg de peso vivo) por vía endovenosa. En la pared abdominal se hicieron dos incisiones, aproximadamente a 4 cm de la línea media y 3 cm anteriores a la ubre. Por una de estas incisiones se insertó un trócar con cánula por donde se introdujo un laparoscopio. Antes de localizar el útero y los ovarios para su examinación, se insufló la cavidad con aire a través de una aguja de Verres. Se localizó el ovario con el cuerpo lúteo más desarrollado, y por la segunda cánula se introdujeron unas pinzas de Babcock con las que se retrajo y exteriorizó el cuerno ipsilateral a dicho cuerpo lúteo. En el cuerno uterino seleccionado se hizo una pequeña punción con un catéter intravenoso (18Gx1¼ ) y se transfirieron los embriones por medio de una jeringa insulínica conectada a una punta para pipeta. Finalmente se regresó el cuerno a la cavidad abdominal y se suturaron las incisiones.

Se obtuvieron muestras de sangre de todas las receptoras diariamente durante los días 10 al 21 posestro, y para evaluar la función lútea se determinaron las concentraciones plasmáticas de progesterona. El diagnóstico de gestación de las receptoras transferidas se realizó mediante ultrasonografía de tiempo real en los días 30 y 60 postservicio.<sup>17</sup>

Las concentraciones diarias de progesterona (días 10 a 21) en las ovejas gestantes y no gestantes se calcularon mediante el método de cuadrados mínimos del procedimiento de modelos lineales generales, analizando en los modelos las variables tratamiento, día del ciclo y la interacción tratamiento-día del ciclo. Los valores de la progesterona entre los grupos se compararon mediante diferencia de medias (prueba de Bonferroni).<sup>18</sup>

En las ovejas no gestantes se midió la duración de la fase lútea, considerando el periodo en que los niveles de progesterona se mantuvieron superiores a 1.0 ng/ml. Este periodo se comparó entre tratamientos mediante la prueba de t. Para comparar el efecto de los tratamientos sobre los porcentajes de fertilidad se utilizó la prueba exacta de Fisher.<sup>19</sup>

## Resultados

En el cuadro 1 se muestra el número de ovejas gestantes y no gestantes, así como el porcentaje de fertilidad por tratamiento. La mayor fertilidad correspondió al grupo en sincronía (sin), aunque ésta no fue estadísticamente diferente a la del grupo con 3 días de asincronía (asin3) ( $P>0.05$ ). En cambio, en el grupo con 4 días de asincronía (asin4) el porcentaje de fertilidad fue significativamente menor al de los otros dos grupos.

**Cuadro 1**  
Porcentajes de fertilidad

<i>Tratamiento</i>	<i>Gestantes</i>	<i>No gestantes</i>	<i>% de fertilidad</i>
sin	10	2	83.33 <sup>a</sup>
asin3	12	9	57.14 <sup>a</sup>
asin4	1	18	5.26 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup> Valores con la misma literal no son diferentes ( $P>0.05$ )

En el cuadro 2 se muestran las concentraciones promedio de la progesterona plasmática (ng/ml) encontradas entre el día 10 y 21 postestro en las ovejas de los diferentes tratamientos, considerando si quedaron gestantes o no como resultado de la transferencia de embriones. Al incluir tanto a las gestantes como a las no gestantes, las concentraciones de progesterona ( $2.63 \pm 0.9$ ) fueron significativamente mayores ( $P<0.05$ ) en el grupo con 3 días de asincronía (asin3) comparado con el grupo en sincronía (sin). Esta diferencia entre las ovejas del grupo asin3 y las del grupo sin se presentó tanto en las ovejas gestantes como en las no gestantes. También las ovejas no gestantes del grupo asin4 tuvieron concentraciones de progesterona significativamente mayores que las no gestantes sincrónicas ( $P<0.05$ ). Solamente una oveja del grupo con 4 días de asincronía quedó gestante, por lo que no fue posible compararla con las ovejas gestantes de los otros grupos.

**Cuadro 2**  
Concentraciones (promedio  $\pm$  e.e.) de progesterona plasmática (ng/ml)  
en receptoras gestantes y no gestantes

<i>Tratamiento</i>	<i>Gestantes</i>	<i>No gestantes</i>	<i>Promedio</i>
sin	2.54 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup> (10)	1.07 $\pm$ 0.19 <sup>c</sup> (2)	1.80 $\pm$ 0.15 <sup>cd</sup> (12)
asin3	3.56 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup> (12)	1.70 $\pm$ 0.08 <sup>d</sup> (9)	2.63 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup> (21)
asin4	2.59 $\pm$ 0.38 (1)	1.70 $\pm$ 0.06 <sup>d</sup> (18)	2.14 $\pm$ 0.22 <sup>d</sup> (19)

<sup>a,b,c,d</sup> Valores que no comparten al menos una literal son significativamente diferentes ( $P > 0.05$ )

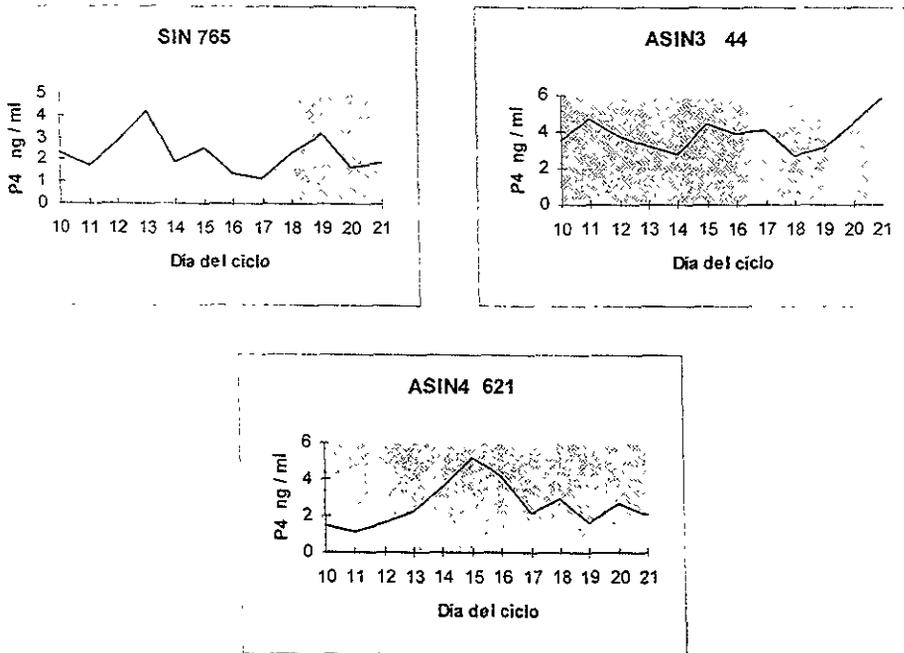
En el cuadro 3 se presentan las concentraciones diarias (días 10 a 21 posestro) de la progesterona plasmática de las ovejas gestantes en cada uno de los tratamientos. De manera general, las concentraciones de progesterona fueron mayores en el grupo con 3 días de asincronía (asin3) en comparación con el grupo en sincronía (sin), tendencia que se mantuvo durante todo el muestreo. En el caso del grupo con 4 días de asincronía (asin4) debe aclararse que las concentraciones mostradas corresponden a la única oveja de este grupo que quedó gestante, por lo que no es posible realizar comparaciones.

**Cuadro 3**  
Concentraciones diarias (promedio  $\pm$  e.e.) de progesterona (ng/ml) en receptoras gestantes

<i>Día del ciclo</i>	<i>Tratamiento</i>		
	<i>sin (10)</i>	<i>asin3 (12)</i>	<i>asin4 (1)</i>
10	2.28 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	3.89 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	1.44 $\pm$ 1.3
11	2.50 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	4.01 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	1.17 $\pm$ 1.3
12	3.45 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	4.52 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	1.66 $\pm$ 1.3
13	2.81 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	3.70 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	2.30 $\pm$ 1.3
14	2.45 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	3.71 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	3.57 $\pm$ 1.3
15	2.50 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	3.09 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	5.19 $\pm$ 1.3
16	2.48 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	2.91 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	4.20 $\pm$ 1.3
17	2.41 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	3.48 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	2.14 $\pm$ 1.3
18	2.38 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	3.27 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	2.98 $\pm$ 1.3
19	2.40 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	3.09 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	1.68 $\pm$ 1.3
20	2.19 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	3.62 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	2.70 $\pm$ 1.3
21	2.70 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	3.49 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	2.06 $\pm$ 1.3

<sup>a,b</sup> Para un determinado día (renglón) los valores que no comparten literal son estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

En la figura 1 se muestran las concentraciones de progesterona durante los días 10 a 21 postestro para algunas ovejas gestantes representativas de los diferentes tratamientos. Aunque las concentraciones fluctúan marcadamente entre animales y entre días, en todas las ovejas las concentraciones se mantienen superiores a 1 ng/ml durante el muestreo.



**Figura 1.** Concentraciones de P4 (ng/ml) en ovejas gestantes de los tres grupos.

En el cuadro 4 se presentan las concentraciones diarias (días 10 a 21) de la progesterona plasmática de las ovejas no gestantes en cada uno de los tratamientos. En general, las concentraciones de progesterona permanecieron superiores a 1 ng/ml hasta alrededor del día 15 postestro. Aunque los grupos en asincronía presentaron mayores concentraciones de P4, únicamente los valores de los días 12 al 14 fueron estadísticamente diferentes a las del grupo en sincronía ( $P < 0.05$ ). En todos los grupos, las concentraciones promedio de progesterona se redujeron a menos de 1 ng/ml a partir del día 16 postestro.

**Cuadro 4**Concentraciones diarias (promedio  $\pm$  e.e.) de progesterona (ng/ml) en las ovejas no gestantes

Día del ciclo	Tratamiento		
	sin (2)	asin3 (9)	asin4 (18)
10	2.53 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	3.48 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	3.69 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>
11	2.31 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	3.73 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	3.29 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>
12	2.29 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	4.21 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	3.67 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>
13	2.15 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	3.59 $\pm$ 0.3 <sup>ab</sup>	4.11 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>
14	1.92 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	3.52 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	3.45 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>
15	1.67 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	1.46 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	1.09 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>
16	0.00 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	0.15 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	0.29 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup> Para un determinado día (renglón) los valores que no comparten literal son estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

En el cuadro 5 se presenta la duración de la fase lútea en las ovejas no gestantes de los diferentes tratamientos, considerando los días en que los niveles de progesterona se mantuvieron superiores a 1.0 ng/ml. Para los tres grupos la duración de la fase lútea correspondió a la que normalmente ocurre en ovejas no gestantes.

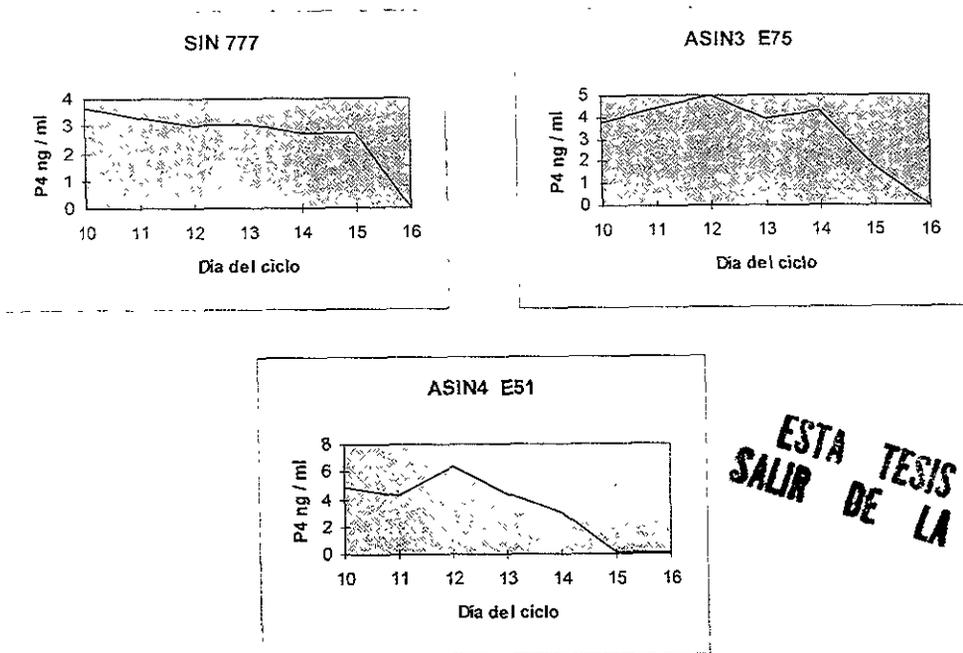
**Cuadro 5**

Días promedio en que los niveles de progesterona de las ovejas no gestantes se mantuvieron superiores a 1 ng/ml.

Tratamiento		Media $\pm$ d.e.
sin	(2)	15.5 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>
asin3	(9)	15.6 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>
asin4	(18)	15.3 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>

Las diferencias entre grupos no son estadísticamente significativas ( $P > 0.05$ ).

En la figura 2 se muestran las concentraciones de progesterona durante los días 10 a 21 postestro para algunas ovejas no gestantes en las que la regresión del cuerpo lúteo ocurrió alrededor del día 15 posterior al estro, equivalente a un ciclo estral normal.



ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

Figura 2. Concentraciones de P4 en ovejas no gestantes de los tres grupos.

## Discusión

En condiciones normales los eventos más importantes del reconocimiento de la gestación, como la secreción de proteínas por parte del embrión ovino, ocurren entre los días 12 y 13 de la gestación, es decir, uno o dos días antes del momento en que está programada la destrucción del cuerpo lúteo por parte del útero materno. Así, el hecho de que en el presente trabajo logran establecerse embriones que solamente tenía 11 días de edad al llegar el momento crítico para el reconocimiento de la gestación, indica que la transferencia de embriones en asincronía de alguna manera acelera el desarrollo embrionario o retrasa la programación uterina de prostaglandinas uterinas, de modo tal que en algunos casos puede establecerse la gestación.

En el presente trabajo se encontró que cuando la receptora se encontraba en sincronía con la donadora en el día 6 postestro se obtuvo la mayor fertilidad (83.3 %). Sin embargo, ésta no fue estadísticamente superior a la obtenida en el grupo con 3 días de asincronía (57.1 %). De cualquier manera, el número de hembras que quedaron gestantes en el grupo con 3 días de asincronía fue superior al esperado, ya que

de acuerdo a la literatura cuando se transfieren embriones de 6 días de edad a receptoras con 72 horas de asincronía los porcentajes de fertilidad son muy bajos.<sup>5</sup> Así, Rowson y Moor<sup>7</sup> obtuvieron un 8 % de fertilidad al transferir embriones de 5 días de edad a receptoras que se encontraban en el día 2 u 8 postestro, mientras que Wilmut y Sales<sup>3</sup> transfirieron embriones de 6 días de edad a receptoras que se encontraban en el día 9 postestro (3 días de asincronía) y ninguno llegó a término.

Las razones por las que en el presente trabajo se obtuvo una fertilidad relativamente elevada en las receptoras con 3 días de asincronía no se conocen, sin embargo en trabajos previos hemos encontrado resultados similares,<sup>13,14</sup> por lo que es posible que los avances en la metodología utilizada, tanto para la recolección como para la transferencia de los embriones, permitan una mayor resistencia de los embriones en comparación a la que se obtenía en décadas pasadas.<sup>3,7</sup> A pesar de esto, es evidente que existe un límite a la asincronía tolerada, ya que en el presente trabajo la fertilidad fue casi nula en el grupo de receptoras con 4 días de asincronía con respecto al desarrollo del embrión.

En la oveja existe evidencia directa de que el ritmo de desarrollo del embrión puede ser modificado por el ambiente uterino. Estos efectos se han estudiado mediante la colección de embriones que previamente habían sido transferidos en asincronía. Así, Lawson *et al*<sup>4</sup> demostraron que cuando se transfirieron embriones de 4 días de edad a ovejas que se encontraban en el día 1 ó 2 postestro, dichos embriones sufrieron un retraso en su desarrollo y fueron incapaces de superar el estadio de blastocito temprano. En cambio, cuando los embriones de 4 días de edad fueron transferidos a receptoras hemihistectomizadas que se encontraban en el día 6 ó 7 postestro, los embriones presentaron un desarrollo acelerado que se mantuvo hasta que el útero alcanzó el día 12 de la gestación. Lo anterior significa que el útero puede producir señales que tratan de estimular el embrión asincrónico para que logre sincronizarse con el útero. Sin embargo, a pesar de que el desarrollo acelerado parece ser un mecanismo para compensar la diferencia de edad entre el embrión y el útero, en el trabajo de Lawson *et al*<sup>4</sup> la mayoría de los embriones murieron posteriormente, indicando que el desarrollo acelerado no era normal, aún cuando algunos de ellos fueron capaces de continuar creciendo hasta la cuarta semana de gestación, siempre y cuando el cuerpo lúteo se mantuviera mediante hemihistectomía. Por el contrario, cuando el cuerpo lúteo no fue mantenido por la hemihistectomía, la mayoría de los embriones se perdieron al ser destruidos cuando ocurrió la regresión del cuerpo lúteo, siendo expulsados del útero al inicio del siguiente estro.

En este trabajo se encontró también que algunos embriones sobrevivieron a una asincronía de 3 días, mientras que otros murieron, lo que indicaría que en algunos casos el mantenimiento del cuerpo lúteo puede ayudar en la continuación de la gestación, pero que en otros el daño inicial sufrido por el embrión al ser transferido en condiciones de asincronía es irreversible. Sin embargo, en el presente trabajo el porcentaje de gestación (57 %) en las hembras con 3 día de asincronía fue mayor al porcentaje de entre un 8 y 20 % obtenido en otros trabajos con cierta similitud.<sup>3,4,7</sup>

En el presente trabajo las concentraciones promedio de progesterona en las ovejas de los grupos en asincronía fueron mayores a las de las hembras del grupo en sincronía, por lo que pudiera pensarse que una hembra que recibe un embrión retrasado en su desarrollo, responde elevando sus concentraciones de progesterona con el objeto de estimular el desarrollo embrionario y compensar su menor edad en relación al útero al que es transferido. En este sentido, Ashworth y Bazer<sup>12</sup> demostraron que la administración de progesterona estimula la síntesis de proteínas embrionarias que son diferentes a las sintetizadas por los embriones de las receptoras que no la reciben. Además Geisert *et al*<sup>20</sup> determinaron que la administración de progesterona a hembras receptoras les provoca una aceleración del desarrollo embrionario y que en el caso del bovino, la progesterona en hembras transferidas en asincronía eleva los porcentajes de fertilidad hasta niveles cercanos a los logrados en las hembras en sincronía. De igual manera, la administración de GnRH a vacas receptoras en asincronía, al incrementar las concentraciones de progesterona, ha logrado favorecer la sobrevivencia de los embriones transferidos.<sup>21</sup>

Sin embargo, aunque en el presente trabajo la elevación en las concentraciones de progesterona provocada por la presencia de embriones asincrónicos pudo haber contribuido a su sobrevivencia, es evidente que dicha elevación por sí misma no garantiza que se mantenga su gestación, ya que también se produjo en aquellas hembras en asincronía en las que la preñez no pudo establecerse.

Las causas por las que mueren los embriones transferidos en asincronía son complejas y difíciles de explicar. Wilmut y Sales<sup>3</sup> encontraron que cuando se transfirieron embriones de 3 ó 6 días de edad a una primer receptora con 3 días de asincronía (día 6 ó 9 posestro, respectivamente) y se colectaron tres días después, dichos embriones eran aparentemente viables. De los embriones de 3 días de edad transferidos a una primer receptora en el día 6 posestro (asincronía) y posteriormente transferidos a una segunda receptora en el día 6 (sincronía), el 70 % llegaron a término. Sin embargo, la mayoría (86 %) de los embriones de 6 días de edad transferidos a una primer receptora en el día 9 posestro (asincronía),

perdieron la capacidad de llegar a término al ser nuevamente transferidos a una segunda receptora que también se encontraba en el día 9 (en sincronía). Esto indicaría que durante los tres días en que los embriones de 6 días de edad se encuentran en el útero asincrónico, se produce en algunos de ellos una alteración que morfológicamente no es visible, pero que los daña definitivamente. Además sugiere que los embriones de 3 días de edad son más resistentes al daño producido por una asincronía temporal, en comparación con los embriones de 6 días de edad. En un trabajo similar Xueshi *et al*<sup>22</sup> transfirieron embriones de 6 días de edad a receptoras que se encontraban en el día 3 del ciclo y al recolectarlos tres días después encontraron que el porcentaje de embriones viables era del 20%, por lo que al parecer el ambiente uterino asincrónico afecta el desarrollo embrionario de diferente manera dependiendo de la edad del embrión.

Por otra parte, en diversos trabajos se ha demostrado que a pesar de existir una relación de asincronía entre el útero y el embrión, es posible obtener un porcentaje importante de gestaciones en las ovejas cuando la asincronía no es mayor de 48 horas.<sup>7,12</sup> Sin embargo, en el presente trabajo se utilizó un estricto criterio de por lo menos 72 horas de asincronía entre el ciclo estral de las donadoras de los embriones y sus receptoras, hecho que de acuerdo a la literatura debería resultar en una fertilidad muy baja, lo que solamente ocurrió en las ovejas con 96 horas de asincronía. El hecho de haber transferido dos embriones a cada receptora no puede explicar la fertilidad obtenida en las ovejas asincrónicas, ya que tanto en los experimentos de Ashworth y Bazer<sup>7</sup> y Odensvik y Gustafsson<sup>23</sup> en los que solamente se transfirió un embrión por receptora; como en los de Moore y Shelton,<sup>6</sup> Rowson y Moor<sup>7</sup> y Albinh *et al*,<sup>24</sup> en donde se transfirieron 2 embriones por receptora, la fertilidad de los grupos en asincronía fue mucho menor que el de las receptoras sincrónicas.

Aunque la transferencia de embriones de 6 días de edad a ovejas que se encuentran en el día 9 ó 10 postestro resulta en una elevación sostenida en las concentraciones de progesterona, que en algunos casos favorece la sobrevivencia embrionaria, el hecho de que solamente el 57% de los embriones transferidos con 3 días de asincronía y el 6% de los transferidos con 4 días de asincronía logaran sobrevivir, a pesar de que en casi todas las receptoras en asincronía se elevaron las concentraciones de progesterona, indica que deben existir factores adicionales que determinen la viabilidad de los embriones transferidos en asincronía.

## Referencias

- 1 Wilmut I, Sales DI The influence of variation in embryo stage and maternal hormonal profiles on embryo survival. *Theriogenology* 1985; 23: 107-119.
- 2 Ashworth, C J Synchrony embryo-uterus. *Anim Reprod Sci* 1992; 28: 259-267.
- 3 Wilmut I, Sales DI Effect of an asynchronous environment on embryonic development in sheep. *J Reprod Fert* 1981; 61: 179-184
- 4 Lawson RAS, Parr RA, Cahill LP Evidence for maternal control of blastocyst growth after asynchronous transfer of embryos to the uterus of the ewe. *J Reprod Fert* 1983; 67: 477-483.
- 5 Wilmut I, Ashworth CJ, Springbett AJ, Sales DI. Effect of variation in embryo stage on the establishment of pregnancy, and embryo survival and growth in ewes with embryos. *J Reprod Fert* 1988; 83: 233-237.
- 6 Moore NW, Shelton JN Egg transfer in sheep. *J Reprod Fert* 1964; 7: 145-152.
- 7 Rowson LEA, Moor RM. Embryo transfer in the sheep: the significance of synchronizing oestrus in the donor and recipient animal. *J Reprod Fert* 1966, 11: 207-212.
8. Rowson LEA, Lawson RAS, Moor RM, Baker. Egg transfer in the cow: synchronization requirements. *J Reprod Fert* 1972; 28: 427-431
9. Wintenberger-Torres S Action de la progesterone et des steroïdes ovariens sur la segmentation des œufs chez la brebis. *Annls Biol Anim, Biophys* 1967, 7: 391-406.
- 10 Moore NW. The use of embryo transfer and steroid hormone replacement therapy in the study of prenatal mortality. *Theriogenology* 1985; 23: 121-128
11. Pope WF, Cárdenas H, Wiley TM, McClure KE. Dose-response relationships of exogenous progesterone shortly after ovulation on estrous cycle length, blastocyst development and fertility in sheep. *Anim Reprod Sci* 1995; 38: 109-117.
12. Ashworth CJ, Bazer FW Changes in ovine conceptus and endometrial function following asynchronous embryo transfer or administration of progesterone. *Biol Reprod* 1989; 40: 425-433.
13. Mejía O, Balcázar J, Zarco L, Valencia J, Rojas S. Sobrevivencia de embriones ovinos transferidos en asincronía mediante la administración de líquido folicular equino. *Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria; 1995 noviembre Vet Méx Supt 2* 1995; 26: 342
14. Mejía VO, Zarco QL, Rojas MS, Rosas M, Valencia MJ. Efecto del líquido folicular y la somatotropina en la sobrevivencia de embriones ovinos transferidos asincrónicamente. *Vet Méx* 1998; 29: 359-367.
15. Wintenberger-Torres S, Sevellec C. Atlas of the early development of the sheep embryo. INRA Station de Physiologie Animale. Paris (France), 1992
16. Ruttle J, Lucero S, Key S, Daniels M, Rodríguez F, Yin HS. Ovine estrus synchronization and superovulation using norgestomet B and Follicle Stimulating Hormone-Pituitary. *Theriogenology* 1988, 30: 421-427.
17. Bretzlaff K, Edwards J, Forrest D, Nuti L. Ultrasonographic determination of pregnancy in small ruminants. *Vet Med* 1993; January; 12-24.
- 18 SAS/STAT (computer program) version 6.03. Cary (NC): SAS Institute Inc, 1991

- 19 Navarro FR *Introducción a la Bioestadística Análisis de Variables Binarias* 1ª ed. México Mc Graw Hill, 1988
20. Geisert DR, Fox CT, Morgan LG, Wells EM, Wetteman PR, Zavy, TM. Survival of bovine embryos transferred to progesterone-treated asynchronous recipients *J Reprod Fertil* 1991, 92: 475-482.
21. Drost M, Tan HS, McMillan KL, Thatcher WW. Successful asynchronous embryo transfer in cattle *Theriogenology* 1989; 31: 186
- 22 Xueshi S, Thomson MR, Wilmut I. Effect of asynchrony between donor and recipient on embryo development in sheep *Act Agri Shanghai* 1989, 5 1-7
23. Odensvik K, Gustafsson H. Effect of flunixin during asynchronous embryo transfer in the heifer. *Anim Reprod Sci* 1994; 36: 13-
24. Albinh A, Gustafsson H, Rodríguez-Martínez H. Maternal influence on the early development of asynchronously transferred bovine embryos. *Anim Rep Sci* 1991; 24: 25-35.

“...más locos que yo los que no ríen, ni lloran,  
ni beben porque son esclavos de inútiles  
respetos sociales...”

Pito Pérez