

01673



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

## EFFECTOS DE UN TRATAMIENTO CORTO DE RBST (LACTOTROPINA) SOBRE LA FUNCIÓN OVÁRICA Y EL DESARROLLO EMBRIONARIO TEMPRANO EN OVEJAS SUPEROVULADAS

### T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN PRODUCCIÓN ANIMAL  
R E P R O D U C C I Ó N  
P R E S E N T A :

**JULIO ROSAS PULIDO**

ASESORES: DR. LUIS ZARCO QUINTERO  
DR. JAVIER VALENCIA MÉNDEZ

295105



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

## INDICE

TEMAS	PAGINAS
<b>I RESUMEN</b>	2
<b>II INTRODUCCION</b>	3
<b>III REVISION DE LITERATURA</b>	
SOMATOTROPINA Y FACTORES DE CRECIMIENTO	5
EFECTOS METABOLICOS DE LA SOMATOTROPINA	10
FOLICULOGENESIS EN LA OVEJA	11
EL CUERPO LUTEO	12
<b>IV MATERIAL Y METODOS</b>	14
<b>V RESULTADOS</b>	18
<b>VI DISCUSION</b>	28
<b>VII CONCLUSIONES</b>	40
<b>VIII LITERATURA CITADA</b>	41

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi esposa Sandra De León por su compañía en toda esta aventura.

A mis asesores Dr. Luis Zarco Quintero y Dr. Javier Valencia Méndez , por su confianza y desmedida paciencia.

A mis compañeros que colaboraron en las colecciones y transferencias de embriones:

Adriana Saharrea, José Luis Cerbón, Verónica Caballero, Octavio Mejía, Alberto Balcazar.

A Clara y Susana por su colaboración en la determinación de las hormonas por RIA.

Al Dr. Luis Ocampo Camberos por facilitarme las dosis de rbSt.

A la División de Estudios de Postgrado e Investigación de la FMVZ de la UNAM por su apoyo académico y administrativo.

Al CONACYT por facilitarme la beca-crédito para la realización de mis estudios de Maestría

Al BANCO DE MEXICO (FIDERH) por otorgarme el crédito para la realización de mis estudios de Maestría.

A la SAGARH por facilitarme la licencia con goce de sueldo para realizar los estudios de Maestría en la ciudad de México.

## RESUMEN

Rosas P.J.

### EFFECTOS DE UN TRATAMIENTO CORTO DE rbST (LACTOTROPINA) SOBRE LA FUNCION OVARICA Y EL DESARROLLO EMBRIONARIO TEMPRANO EN OVEJAS SUPEROVULADAS.

Asesores : Zarco, Q. L. y Valencia, M. J.

El presente estudio se realizó con la finalidad de determinar si la administración de una dosis de Somatotropina bovina aplicada al momento del celo afecta la calidad del folículo preovulatorio, de los cuerpos lúteos y el desarrollo embrionario temprano (0-6 días) en la oveja superovulada. Experimento I.- Se sincronizó el celo de 60 ovejas, que se encontraban ciclando regularmente, con esponjas intravaginales conteniendo 40 mg de acetato de fluorogestona (Intervet), posteriormente fueron superovuladas con 15 mg de FSH-P (Scheramex). Al momento de la detección del celo se les aplicó a 30 ovejas 100 mg de somatotropina bovina (Lactotropina, Monsanto), y a las 30 restantes sólo un placebo. Todas las ovejas fueron servidas por monta natural 12 h después de ser detectadas en celo. Al sexto día postservicio, por laparotomía ventral media, se efectuó la recolección de embriones y el conteo de estructuras ováricas. En 15 ovejas de cada grupo, se obtuvieron muestras de sangre diariamente desde el día 3 hasta el día 6 postinseminación, con el objeto de determinar las concentraciones plasmáticas de progesterona mediante radioinmuno-análisis de fase sólida. Respecto a las estructuras ováricas, el número de folículos presentes al momento de la laparotomía fué igual para ambos grupos ( $0.4 \pm 0.22$  vs  $0.43 \pm 0.24$ ), pero el número de cuerpos lúteos totales ( $9.5 \pm 1.24$  vs  $14.2 \pm 1.36$ ) y cuerpos lúteos normales ( $8.36 \pm 1.29$  vs  $14.16 \pm 1.36$ ) fueron mayores en el grupo tratado, y el grupo testigo presentó un mayor número de cuerpos lúteos en regresión ( $1.13 \pm 0.49$  vs  $0.03 \pm 0.03$ ) ( $P \leq 0.05$ ). En cuanto a los niveles de progesterona, el grupo tratado presentó mayores concentraciones ( $3.23 \pm 0.27$  vs  $5.86 \pm 0.28$  ng/ml) ( $P \leq 0.05$ ) durante el periodo de muestreo, esta diferencia se remarcó por la luteólisis prematura en 6 de las 15 ovejas testigo. Al comparar exclusivamente las concentraciones entre las ovejas que no presentaron luteólisis en ambos grupos, el grupo tratado permaneció con las concentraciones mas altas ( $4.28 \pm 0.41$  vs  $5.87 \pm 0.28$  ng/ml) ( $P \leq 0.05$ ).

De las 30 ovejas testigo sólo se utilizaron 15 para la comparación de la recolección de embriones. En siete ovejas del grupo tratado y cinco del testigo, no fue posible extraerles los embriones debido a que el útero se presentaba adherido a la cavidad. El número de estructuras totales recuperadas (ovocitos y embriones) fue similar en ambos grupos ( $8.80 \pm 1.42$  vs  $6.60 \pm 1.09$ ) ( $P \leq 0.05$ ), pero el porcentaje de embriones fertilizados fue mayor en el grupo tratado (65.90 vs 77.63%) y en contraparte el grupo testigo presentó un mayor porcentaje de ovocitos (30 vs 34 %) ( $P \leq 0.05$ ). El porcentaje de embriones transferibles fue similar en ambos grupos (91.37 vs 83.89 %). Al comparar el porcentaje de embriones que llegaron a cada uno de los estadios de desarrollo, se observó que el grupo tratado presentó un mayor porcentaje de embriones con menos de 64 células ( $2.27$  vs  $12.5\%$ ). Al comparar exclusivamente la categoría de blastocistos, se observó una mayor proporción de blastocistos iniciales en el grupo testigo (39.28 vs 10.90 %), en cambio los blastocistos del grupo tratado tuvieron una mayor tendencia a agruparse en las categorías de un mayor desarrollo como son los blastocistos en expansión (0.0 vs 23.63%), en eclosión (7.14 vs 10.90%), y eclosionados (25 vs 27.27%) ( $P \leq 0.05$ ).

Experimento II El tratamiento con rbSt no afectó el número total de folículos antrales ( $4.18 \pm 0.64$  vs  $3.18 \pm 0.61$ ), sin embargo el grupo tratado presentó un mayor porcentaje de folículos de más de 2 mm de diámetro (56.52 vs 82.85%), mientras que las ovejas del grupo testigo presentaron un mayor porcentaje de folículos menores de 2mm de diámetro (43.47 vs 17.14%).

En el presente trabajo no se encontró evidencia que la somatotropina aplicada al momento del estro afecte al folículo preovulatorio, mas si aumenta las concentraciones de Progesterona circulante.

# EFFECTOS DE UN TRATAMIENTO CORTO DE rbST (LACTOTROPINA) SOBRE LA FUNCION OVARICA Y EL DESARROLLO EMBRIONARIO TEMPRANO EN OVEJAS SUPEROVULADAS.

## I. INTRODUCCION

La mayoría de los conocimientos obtenidos de los efectos de la somatotropina sobre la reproducción en los bovinos, se han derivado de estudios de tratamientos a largo plazo (de 2 hasta 40 semanas) (Dalton y Marcinkowski 1994; Zhao et al ,1994; Esteban et al , 1994; Lucy et al ,1994) y teniendo como enfoque primario el aumento de la producción láctea, considerando sólo como efectos asociados o secundarios, los que tiene sobre la reproducción.

Morales (1993) realizó un estudio específico para evaluar el efecto de un tratamiento corto de somatotropina bovina recombinante (rbST ,Lactotropina) sobre la fertilidad de vacas Holstein repetidoras, enfocándose principalmente al efecto sobre el índice de concepción. El trabajo consistió en aplicar tan sólo 2 inyecciones de rbST, de 500 mg cada una,( la primera el día de la inseminación y la segunda 10 días después), obteniéndose como resultado un incremento significativo ( $p < 0.05$ ) en el índice de concepción (26.02 en el grupo testigo vs 36 % en el grupo tratado) y un aumento en los niveles circulantes de progesterona, al día 18 post-IA ( $3.46 \pm .63$  vs  $6.44 \pm .68$ ,  $P < 0.05$ ). Esta asociación entre el incremento en los índices de concepción y los altos niveles de progesterona circulantes, provocados por el uso de somatotropina, apoya el concepto de que la insuficiencia lútea, manifestada como una inadecuada producción de progesterona para el mantenimiento del desarrollo embrionario temprano, es una de las causas importante de subfertilidad en la vaca (Hansel y Blair 1996).

Es posible que el incremento en los niveles circulantes de progesterona no sea el único mecanismo mediante el cual el tratamiento con rbst aumente la sobrevivencia embrionaria, ya que mientras algunos estudios indican que las inyecciones de progesterona o de gonadotropinas aplicadas para incrementar la producción de progesterona durante la gestación temprana mejoran la fertilidad (Nephew et al , 1994; Colborn et al , 1994; Kerbler et al , 1994; Kleeman et al, 1994 Pope

et al , 1995) otros indican que dichos tratamientos son inefectivos (Barros et al , 1992; Shelton et al ,1990).

El presente trabajo tiene la finalidad de esclarecer algunas de las posibles vías a través de las cuales la somatotropina, directa o indirectamente, mejora la fertilidad en tratamientos cortos. Para ello se utilizó como modelo la oveja superovulada.

**HIPOTESIS** La somatotropina aplicada en tratamientos cortos influye sobre la calidad y desarrollo del folículo preovulatorio, del cuerpo lúteo y estimula el desarrollo embrionario temprano en la oveja.

**OBJETIVO GENERAL** Evaluar algunas de las posibles vías a través de las cuales la somatotropina, en tratamientos cortos, pudiese mejorar la fertilidad.

### **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

I.- Evaluar el efecto de la somatotropina sobre el desarrollo y calidad del folículo preovulatorio en la oveja.

II.- Determinar si la somatotropina en tratamientos cortos mejora el desarrollo y capacidad de producción de progesterona de los cuerpos lúteos durante los primeros 6 días del ciclo estral.

III.- Determinar el efecto de la somatotropina bovina sobre el desarrollo embrionario temprano (0-6 días) en la oveja.

## **II. REVISION DE LITERATURA.**

### **2.1.- SOMATOTROPINA Y FACTORES DE CRECIMIENTO.**

La somatotropina bovina es una proteína lineal simple, compuesta de 191 aminoácidos y producida por la hipófisis anterior (Grotsky 1979), con un peso molecular de 22 kDa y su estructura cuaternaria esta formada por 4 hélices, y desde el punto de vista funcional tiene 2 dominios, somatogénico y el lactogénico (Van der Walt 1994). No obstante que existe especificidad de especie, se ha visto experimentalmente que las hormonas de crecimiento de algunas especies tienen actividad biológica en especies diferentes a la propia, como en el caso de la hormona bovina que estimula el crecimiento en ratas y ovejas (Bernal 1990).

La somatotropina, en forma general, actúa sobre la síntesis de proteínas, incrementando la retención de nitrógeno y de fósforo en el organismo, aumentando el transporte de los aminoácidos hacia el interior de la célula, y estimulando la síntesis de los ácidos nucleicos. Además, la hormona del crecimiento estimula la hidrólisis de los triglicéridos del tejido adiposo, o sea que aumenta la movilización de las reservas de grasa del tejido adiposo (Martin 1976; McCutcheon & Bauman 1986). Estimula también la gluconeogénesis en el hígado, aumentando el aporte de glucosa a la circulación, y por lo tanto a las células, y finalmente ayuda a la retención de sodio, potasio, magnesio y cloro (Turner y Bagnara 1976).

Muchos de los efectos metabólicos de la somatotropina se llevan a cabo de manera directa, pero otros los realiza de manera indirecta a través de las somatomedinas, las cuales son producidas principalmente en el hígado, por estimulación de la somatotropina (Martin 1976; Cohick *et al.*, 1987; Davis *et al.*, 1987).

Las somatomedinas o factores de crecimiento, son proteínas de peso molecular menor a 30,000 daltons, las cuales actúan principalmente como hormonas parácrinas o autócrinas en diferentes tejidos (Davis *et al.*, 1994; Monget y Monniaux 1995).



Se ha sugerido que diversos factores de crecimiento tienen un potencial papel regulador de la función ovárica en los mamíferos (Davis et al, 1994). Hay evidencia de que al menos 4 familias de factores de crecimiento tienen esta posible función (Spicer et al , 1994; Spicer y Echtenkamp, 1995): Los factores de crecimiento parecidos a la insulina (IGF-I, IGF-II), el factor de crecimiento epidermal y factor de crecimiento y transformación con actividad alfa ( EGF/TGF- $\alpha$ ), los factores del crecimiento de los fibroblastos, ácidos y básicos (aFGF,bFGF), y la superfamilia de factores de crecimiento y transformación con actividad alfa y beta (TGF- $\alpha$ , $\beta$ ) (Hill 1989).

Los factores de crecimiento parecidos a la insulina I y II (IGF-I, IGF-II), son polipéptidos con peso molecular de alrededor de 7,500 daltons, el IGF-I tiene 70 aminoácidos y 67 el IGF-II, teniendo similitud estructural y funcional con la insulina (Hill,1989). El IGF-I es un importante mediador del crecimiento que se produce en respuesta a la hormona del crecimiento, mientras que el IGF-II es menos dependiente.

Debido a que tanto en los tejidos uterinos como en sus secreciones se han encontrado estos factores de crecimiento, así como por su capacidad para mediar el crecimiento y diferenciación celular, estos factores pueden actuar sobre el útero materno y/o el desarrollo embrionario, para iniciar o ampliar la comunicación entre el embrión y la madre durante el proceso de reconocimiento de la gestación (Simmnen et al , 1993).

Al respecto se ha utilizado como modelo de estudio a las cerdas, vacas y ovejas, para entender la contribución materna al desarrollo del embrión, se ha obtenido información que señala un papel importante de los IGF's en el proceso de peri-implantación del embrión (Simmens et al ,1993). Así, se ha encontrado que los niveles de IGF-I en cerdas, aumentan en el día 12 de la gestación, momento en que se inician grandes transformaciones morfológicas en el embrión suino a nivel uterino (Letcher et al , 1989), mientras que en el bovino aumentan entre el día 15 a 18 de gestación, cuando el embrión bovino crece notoriamente y se expande (Geisert et al , 1991). En las ovejas, el contenido de IGF-II a nivel del fluido luminal uterino es más alto en el día 14 de

gestación, que corresponde al día de máxima síntesis y secreción de la proteína trofoblástica ovina-I (oTP), que es la hormona responsable del reconocimiento de la gestación (Ko et al , 1991).

Por otro lado, en embriones ovinos se ha determinado que entre los días 13 y 14 de su desarrollo se hace evidente la expresión de los genes para los factores de crecimiento (IGF-I, IGF-II, TGF-a, y TGF-b). Estudios in vitro han demostrado que hay una correlación entre la capacidad del embrión porcino para responder al IGF-I, y el estado de desarrollo de dicho embrión (Hofig et al, 1991). De igual manera, en el embrión de oveja se sugiere que los IGF's juegan un papel importante en el mantenimiento de la secreción de oTP-I (Ko et al , 1991).

Con base a lo anterior se plantea la posibilidad de que los niveles relativos de IGF-I e IGF-II en el útero, más que sus concentraciones absolutas, regulen la síntesis y/o secreción de las señales que emite el embrión para el reconocimiento de la gestación (Simmen et al, 1993).

Además de sus posibles efectos sobre el desarrollo embrionario, los factores de crecimiento también podrían favorecer la reproducción mediante sus efectos en los órganos del aparato genital materno, ya que tanto el útero como los oviductos, ovarios, folículos ováricos y cuerpos lúteos, presentan receptores para los factores de crecimiento (Armstrong y Xia 1993). En las células oviductales de borrega se ha observado que durante todas las fases del ciclo estral existe la presencia de receptores para IGF-II. A nivel de ovarios, tanto de fetos como de ovejas adultas, se han encontrado altos niveles de RNAm para IGF-I, sobre todo a nivel de células de la granulosa y tecaes de los folículos antrales presentes, y también a nivel del cuerpo lúteo de ovejas adultas (Leeuwenberg et al , 1993).

Estudios en ratas han demostrado que los IGF-I, EGF, TGF-a y TGF-b participan en un sistema intraovárico cuya función es controlar la supervivencia de las células foliculares a través del bloqueo del proceso de apoptosis, evitando así la atresia (Tilly y Furuta 1993). De igual manera, los IGF-I estimulan en forma dependiente la proliferación de las células de la granulosa de folículos pequeños, medianos y grandes de bovinos. Al actuar en presencia de FSH o LH, los IGF-I

sinergizan su acción, para estimular la proliferación de las células de la granulosa de los folículos pequeños; esta acción no ha sido observada en los folículos medianos o grandes (Webb *et al.*, 1993).

En cuerpos lúteos de conejas, tanto *in vivo* como *in vitro*, se ha encontrado una correlación entre la máxima expresión génica del IGF-I, y los niveles de máxima producción de progesterona, lo que implica que los IGF-I tienen un papel importante en la producción de progesterona. Esta producción se ha observado que es aún mayor cuando se estimula conjuntamente con IGF-I y estradiol. De lo anterior, Chen *et al.* (1993) sugieren que las mismas células lúteas que producen progesterona en la coneja, producen IGF-I, el cual tienen una acción autócrina mediante la cual estimula la propia producción de progesterona.

Considerando parte de la evidencia anterior, Simmen *et al.* 1993, sugirieron que la industria de la transferencia de embriones se vería grandemente favorecida con las potenciales aplicaciones de los factores de crecimiento producidos por tecnología recombinante, teniéndose como posibles resultados una mejora en la viabilidad embrionaria, un mayor "rescate" de los embriones con un desarrollo menor al de su edad (aumentando así las posibilidades de que éste emita su señal antilúteolítica y logre el reconocimiento materno de la gestación), mejorando la "sincronización" del ambiente uterino para la receptividad, incrementando la sobrevivencia embrionaria, e incrementando las tasas de gestación y la eficiencia reproductiva. Sin embargo por el momento no existen presentaciones comerciales de IGF's que pudiesen ser utilizadas a gran escala para elevar considerablemente los niveles circulantes, y de esta manera obtener los posibles efectos antes mencionados.

Una de las formas en que se pueden incrementar indirectamente los niveles circulantes de IGF-I es a través de la aplicación de rbST (somatotropina bovina recombinante), ya que los niveles de IGF-I se incrementan notoriamente dentro de las 48 h posteriores a la aplicación de la rbST (Gong *et al.*, 1993). Diversos estudios han demostrado que la aplicación exógena de hormona de

crecimiento bovina tiene un efecto sobre varias funciones reproductivas. Eckery *et al* 1993, al aplicar somatotropina recombinante de bovino a 6 borregas hipofisectomizadas por un periodo de 12 días y a una dosis de 80 µg/kg., seguido por PMSG al octavo día, logró el desarrollo folicular y la ovulación en 5 de las 6 borregas tratadas, con lo cual se confirmó que la somatotropina juega un papel importante en el mantenimiento de la sensibilidad de los folículos a las gonadotropinas, mientras que la administración de la gonadotropina sólo no fue capaz de mantener el desarrollo folicular en las ovejas hipofisectomizadas.

Esto también se ha demostrado en vaquillas a las cuales se les aplicó rbST en el día 7 del ciclo seguido 5 días después por 2000 u.i. de PMSG para inducir superovulación, lográndose aumentar al doble el número de folículos antrales pequeños (2-5 mm) (Gong *et al* , 1993). Estos aumentos también se han visto en vacas lactantes, pero en los folículos de tamaño medio (6-9 y 10-15 mm) (De la Sota *et al* , 1993).

Con respecto a la función del cuerpo lúteo (CL), Lucy *et al*.1993a, trabajando con vaquillas a las que les aplicaron 25 mg de rbST en las diferentes fases del ciclo estral encontraron que tanto el tamaño del CL como la producción de progesterona aumentaron significativamente ( $P < 0.06$ ), tanto en aquellos casos en los que la rbST fue aplicada durante la fase lútea temprana ( $< 10$  días) (377 vs 326 mm<sup>2</sup>, 2.68 vs 2.21ng/ml), como en la fase lútea tardía (días 16-21) ( $P < 0.3$  354 vs 297 mm<sup>2</sup>, 4.3 vs 2.8 ng/ml), lo que indica que la aplicación de rbst aumenta el tamaño y función del cuerpo lúteo. Se ha asumido que todos los cambios anteriores son efectos indirectos mediados por los IGF-1 y/o Insulina, ya que los folículos ováricos poseen una cantidad ínfima de receptores para la somatotropina (Lucy *et al* , 1993b).

## **2.2.- EFECTOS METABOLICOS DE LA SOMATOTROPINA.-**

La somatotropina a nivel fisiológico general tiene un gran efecto sobre el metabolismo tanto de los carbohidratos así como de los lípidos; los cambios en estas rutas metabólicas dependen tanto de la especie como del manejo general y nutricional (Van der Walt, 1994).

Dichos efectos incluyen un aumento de la gluconeogénesis hepática, con la consecuente reducción de la síntesis de grasa por parte del tejido adiposo (lipogénesis) y la remoción de los depósitos corporales de grasa (lipólisis) (Martin, 1976; Turner, 1976). Estos fenómenos resultan en un del incremento a nivel circulatorio de las concentraciones de glucosa como de ácidos grasos no esterificados.

Uno de los mecanismos responsables de estos efectos puede ser el efecto antagónico al de insulina sobre el tejido adiposo, ya que normalmente la insulina promueve la lipogénesis cuando hay un aumento de la ingestión de glucosa. Bajo los efectos de la somatotropina en los adipositos se activa una proteasa no lisosomal que hidroliza a la insulina, impidiéndole ejercer su efecto (Van der Walt, 1994).

Los aumentos en los niveles circulantes de glucosa, posiblemente provocados por la somatotropina, son detectados a nivel hipotalámico por los centros glucodetectores, como una referencia de la disponibilidad energética, la cual podría tener un efecto sobre la frecuencia de liberación del GnRH, y por tanto en la secreción de la LH (Bucholtz et al , 1994).

Otro de los efectos sobre el metabolismo de los lípidos, es que la rbST puede modificar las concentraciones circulantes de las lipoproteínas de alta (HDL), y baja densidad (LDL) dependiendo tanto de la especie como del tipo de dieta suministrado (Van der Walt, 1994). La importancia de estas lipoproteínas radica en que, en rumiantes, son la principal fuente plasmática del colesterol, precursor necesario para la síntesis de esteroides por las células lúteas, por lo que un aumento en sus concentraciones circulantes podría favorecer la mayor producción de progesterona.

### **2.3.- FOLICULOGENESIS EN LA OVEJA**

La foliculogénesis en la oveja esta controlada por una serie de relaciones entre los esteroides intrafoliculares, los factores de crecimiento, factores extraováricos y el sistema de retroalimentación del eje hipotálamo-hipófisis-ovario (Campbell *et al* , 1995).

La foliculogénesis es un proceso largo que toma cerca de 180 días desde que un folículo es primordial (100  $\mu$ m) hasta que llega al estadio de folículo ovulatorio (> 5 mm) (Cahill y Mauleon 1981).

Cuarenta días antes de que un folículo alcance el tamaño ovulatorio se da la formación del antró, para lo cual el folículo ya tiene un diámetro de 0.2 a 0.4 mm. Al igual que en la vaca, durante el desarrollo de la población de folículos antrales se presenta una marcada jerarquización, la cual se denota por las diferentes cantidades de los folículos en desarrollo, presentándose entre uno y tres folículos de 2-3 mm, de uno a cuatro de folículos mayores 3.5 mm y de uno a cuatro folículos ovulatorios, de acuerdo a la tasa ovulatoria propia de la raza.

En evaluaciones del desarrollo folicular por ultrasonografía en ovejas con ovarios autotransplantados, se ha demostrado que no existe un patrón claro de dominancia desde el punto de vista morfológico, sin embargo, si hay evidencia hormonal de que las concentraciones de estradiol circulante, presentan un patrón periódico con duración de 4 o 5 días. Lo anterior indica que el tamaño del folículo por sí sólo no es un buen predictor de la salud del folículo, y que el estado secretorio del folículo, a un tiempo dado, puede ser un predictor más seguro para evaluar la dinámica del crecimiento folicular en la oveja.

Partiendo de los criterios anteriores, Scaramuzzi *et al* (1993), desarrollaron un modelo que intenta integrar los modelos morfológicos de la foliculogénesis, con estudios de endocrinología molecular de los folículos. Este modelo define 5 clases de folículos de acuerdo a su dependencia o sensibilidad a las gonadotropinas : Folículos primordiales, folículos reclutados, folículos que no

responden a las gonadotropinas (gonadotropino independientes), folículos dependientes de gonadotropinas (gonadotropino dependientes), y folículos ovulatorios.

Basándose en los cambios fisiológicos durante el desarrollo folicular, Scaramuzzi et al 1993, proponen 2 hipótesis para explicar los mecanismos posibles por los cuales se determina la tasa ovulatoria en la oveja. La primera hipótesis propone que la ovulación múltiple resulta cuando la viabilidad de los folículos dependientes de gonadotropinas se incrementa.

La segunda hipótesis propone que la ovulación múltiple es causada por el incremento en el número de folículos que responden a las gonadotropinas, que están disponibles para el desarrollo subsiguiente. Es de resaltar que ambas hipótesis no son mutuamente excluyentes.

#### **2.4.- EL CUERPO LÚTEO**

El cuerpo lúteo está compuesto por dos grandes tipos de poblaciones celulares: Las células esteroidogénicas y las células no esteroidogénicas.

##### **2.4.1.- Células lúteas no esteroidogénicas.-**

En este grupo se incluyen los macrófagos y las células endoteliales, que provienen del sistema microvascular y forman cerca del 14% del volumen y 53% del total de células del cuerpo lúteo bovino (O'Shea et al , 1989).

La función principal de los macrófagos presentes en el cuerpo lúteo, es la fagocitosis, sobre todo la que se requiere durante la regresión del cuerpo lúteo.

Por su parte las células endoteliales del cuerpo lúteo se clasifican en 5 diferentes tipos y se cree que tienen la capacidad de secretar factores que pueden estar involucrados tanto en el proceso lúteotrópico como en el luteolítico (Gires et al , 1995).

Los fibroblastos, tienen un diámetro de 15  $\mu\text{m}$  y comprenden el 6% del volumen total y el 10 % de todas las células del cuerpo lúteo bovino (O'Shea et al , 1989). Además de tener una función estructural al generar la colágena y los glucosaminoglicanos, los fibroblastos secretan una serie de sustancias entre las que se encuentran las citocinas (Pate, 1994). En el caso particular de la oveja, se

### **III. MATERIAL Y METODOS**

El presente trabajo se desarrolló en el Departamento de Reproducción Animal y en el Centro de Enseñanza Práctica Investigación y Extensión en Rumiantes (CEPIER), ambos pertenecientes a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. El CEPIER está ubicado en el km. 29 de la carretera Federal México-Cuernavaca, delegación Tlalpan D.F., a 2670 msnm, 19, 3' latitud norte, y 99' 8' longitud oeste. El clima de la región es de tipo C (W) (W) b(ij), que corresponde a semifrío, semihúmedo, con lluvias en verano y una precipitación pluvial de 800 a 1200 mm (García, 1981). El trabajo se realizó durante los meses de octubre a noviembre que corresponden al periodo de actividad reproductiva en las ovejas del CEPIER.

#### **EXPERIMENTO I**

El objetivo de este experimento fue el determinar si la somatotropina en tratamientos cortos mejora el desarrollo y capacidad de producción de progesterona de los cuerpos lúteos durante los primeros 6 días del ciclo estral así como su efecto sobre el desarrollo embrionario temprano (0-6 días) en la oveja. Se utilizaron 60 ovejas, las cuales se sincronizaron mediante la aplicación de esponjas intravaginales impregnadas con 40 mg de acetato de fluorogestona\*, las que permanecieron por 12 días antes de ser retiradas. Para la superovulación se utilizó la hormona FSH-P \*, en una dosis total de 15 mg. (Evans *et al* , 1994; Luyando *et al* , 1995) bajo el siguiente esquema: 7 mg dos días antes de retirar la esponja, 4 mg en la mañana y 3mg en la tarde. Al día siguiente 2 mg en la mañana y 2 mg en la tarde, y el día del retiro de la esponja 2 mg en la mañana y 2 mg en la tarde. La detección de celo se realizó dos veces al día utilizando un macho entero provisto de un mandil. Al momento en que se detectó el celo, a 30 ovejas se les aplicaron 100 mg de somatotropina bovina \*\*\* , por vía subcutánea, y las 30 restantes no recibieron somatotropina y sirvieron como testigos.

\*.- Chrono-Gest, Intervet México. \*\*.- FSH-P Scheramex, México. \*\*\* Lactotropina, Monsanto.



Las ovejas fueron servidas por monta natural 12 h después de ser detectadas en celo.

La colección de embriones se efectuó por laparotomía media ventral en el día 6 postservicio, para lo cual se exteriorizó el útero y se observaron los ovarios con el fin de contabilizar el número de estructuras ováricas presentes. Las estructuras lúteas observadas se clasificaron de acuerdo a sus características morfológicas en cuerpos lúteos normales (de forma bien definida, de color rojo y aparentemente bien irrigados), y en cuerpos lúteos en regresión (de tamaño pequeño, con coloración blanco azulado y sin irrigación aparente) (Cerbón 1995). Posteriormente ambos cuernos uterinos fueron lavados para coleccionar los embriones los cuales fueron evaluados morfológicamente, en un microscopio estereoscópico, a 40X.

De acuerdo a su calidad los embriones se clasificaron en las siguientes categorías (Dorn et al 1987 y Wintenberger et al 1990):

Embrión calidad I (Excelente o muy bueno).- Embrión compacto y esférico, con blastómeros poligonales de tamaño, textura y color homogéneos, sin gránulos en el citoplasma, con pocas vesículas pequeñas, el espacio perivitelino vacío, estadio de acuerdo a la edad.

Embrión calidad II (Bueno).- Ligera asimetría, pocos blastómeros extruidos y un ligero retardo en su desarrollo.

Embrión calidad III (Regular o pobre).- Ligero grado de degeneración, blastómeros esféricos dispares poco compactos y de tamaño variable, retardo de 1 a 2 días en su desarrollo, masa celular aparentemente viable, grandes vesículas entre las células, color muy claro u oscuro, irregularidades en la superficie de la masa celular, material de desecho en el espacio perivitelino.

Embrión calidad IV (Degenerado o no transferible).- Zona pelúcida rota, blastocele no visible, grandes zonas de degeneración, poca cantidad de células, blastómeros sueltos de diferentes tamaños.

Por otra parte, los embriones se clasificaron de acuerdo a su desarrollo en nueve tipos, a cada uno de los cuales se les asignó una escala numérica, correspondiendo el 1 al de menor desarrollo

posible (ovocito) y el 9 al máximo desarrollo (blastocisto eclosionado) ( Dorn et al 1997 y Wintenberger et al 1990).

Se consideraron como transferibles a los embriones de clasificación 4 a 9 y de calidad buena, muy buena o excelente.

<u>DESARROLLO</u>	<u>CLAVE</u>	<u>TRANSFERIBLE</u>	<u>NO TRASFERIBLE</u>
Ovocito	1		X
2 a 32 células	2		X
32 a 64 células	3		X
Mórula Compacta	4	X	
Blastocisto inicial	5	X	
Blastocisto maduro	6	X	
Blastocisto expandido	7	X	
Blastocisto en eclosión	8	X	
Blastocisto eclosionado	9	X	

En 15 ovejas de cada grupo se obtuvieron muestras de sangre diariamente desde el día 3 hasta el día 6 postinseminación con el objeto de determinar las concentraciones plasmáticas de progesterona mediante RIA de fase sólida (Srikandakamur et al 1986). El coeficiente de variación intraensayo para el control bajo ( $0.487 \pm 0.043$  ng/ml) fue de 8.84% y para el control alto ( $11.18 \pm 0.304$  ng/ml) de 2.72%. El coeficiente de variación interensayo fue de 6.11 y 8.30 % respectivamente..

### Análisis Estadístico

Para el promedio de folículos, cuerpos lúteos, cuerpos lúteos normales, total de estructuras recuperadas, embriones transferibles, de cada grupo se utilizó la prueba de "t" de student, y "Ji" Cuadrada para medir diferencias entre los estadios de desarrollo embrionario, eficiencia de recuperación embrionaria, porcentaje de fertilización.

Para analizar las concentraciones de progesterona se empleó un Análisis de varianza para mediciones repetidas, tomando como variables independientes el tratamiento y día postservicio, y el efecto de animal anidado dentro de tratamiento.

### EXPERIMENTO II

El objetivo de este experimento fue evaluar el efecto de la somatotropina, aplicada al momento del celo, sobre el desarrollo y calidad del folículo preovulatorio en la oveja.

Se utilizaron 20 ovejas cruce Hampshire por Suffolk, con un peso aproximado de 40 kg. que se encontraban ciclando regularmente (con dos ciclos estrales detectados previamente) y se sincronizaron con esponjas intravaginales que permanecieron por 12 días. A partir de las 24 h. de haber retirado las esponjas se detectaron los calores cada 2 h. y al momento de la confirmación del celo se aplicaron 100 mg de somatotropina bovina a 10 de las ovejas y a las otras 10 se les aplicó únicamente un placebo.

Veinticuatro horas después de la detección del celo y de la aplicación de la somatotropina, se expusieron los ovarios por laparotomía ventral media y se contabilizaron las estructuras ováricas presentes, además de tomar las mediciones del diámetro exterior de los folículos con un vernier calibrado. Los folículos se clasificaron, de acuerdo a su diámetro, como gonadotropina-independientes (< 2mm) y gonadotropina-dependientes (> 2mm) (Eckery et al., 1993). Considerando que los folículos de ovinos a partir de los 3.5mm de diámetro empiezan a secretar grandes cantidades de estradiol (Campbell et al., 1995) los folículos también se clasificaron como Pequeños (1.0-3.4mm) y Grandes (> 3.5mm) y se puncionaron para extraer el líquido folicular con una jeringa para insulina. El líquido colectado fue suspendido en heparina en dilución 1:1 y congelado posteriormente hasta realizar la determinación de las concentraciones de estradiol por radioinmunoanálisis en fase sólida (Srikandakamur et al 1986).

## RESULTADOS

### EXPERIMENTO I

Para la comparación de las estructuras ováricas presentes al momento de la laparotomía se tomaron en cuenta las 30 ovejas testigo y las 30 del grupo de tratado. En lo que respecta al número de folículos presentes al momento de la laparotomía, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos ( $0.4 \pm 0.22$  vs  $0.43 \pm 0.24$  en las ovejas testigos y tratadas respectivamente,  $P \geq 0.05$ ).

En cuanto al número de cuerpos lúteos (Cls) presentes al momento de la laparotomía (Cuadro I), se encontraron diferencias significativas, a favor del grupo tratado ( $9.5 \pm 1.24$  vs  $14.2 \pm 1.36$   $P \leq 0.01$ ). Con respecto al número de Cls. normales también se encontraron diferencias significativas a favor del grupo tratado ( $8.36 \pm 1.29$  vs  $14.16 \pm 1.36$   $P \leq 0.003$ ), mientras que el número de Cls. en regresión fue mayor en el grupo testigo ( $1.13 \pm 0.49$  vs  $0.03 \pm 0.03$   $P < 0.03$ ).

**Cuadro I** Comparaciones entre el número total de cuerpos lúteos, cuerpos normales y cuerpos lúteos en regresión, observados al momento de la laparotomía en el día 6 postratamiento en ovejas testigo y tratadas con rbst.

Grupo	n	Cls. Totales Media $\pm$ E.E	Cls. Normales Media $\pm$ E.E	Cls. Regresión Media $\pm$ E.E
Testigo	30	9.5 + 1.24 a	8.36 + 1.29 a	1.13 + 0.49 a
Tratadas	30	14.2 + 1.36 b	14.16 + 1.36 b	0.03 + 0.03 b

ab, Diferente literal, en la misma columna, indica diferencia significativa entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ).

En el grupo testigo se encontró que 4 ovejas no presentaban cuerpos lúteos al momento de la laparoscopia y 2 animales del grupo tratado tampoco tenían cuerpos lúteos. Al eliminar a estos animales y volver a analizar los resultados ya no se encontraron diferencias en el número total de Cls, pero sí en cuanto al número de cls. normales a favor del grupo tratado y en cls. en regresión a favor del grupo testigo (Cuadro II).

En el cuadro IV se observa que las concentraciones de progesterona fueron significativamente más elevadas en el grupo tratado que en el testigo ( $P \leq 0.05$ ). Esta diferencia se debió a que en el grupo tratado, las concentraciones de la hormona se elevaron significativamente el día 3 y 4, y continuaron elevándose hasta el día 6, cuando llegaron a ser más del doble que las presentes en el día 3. En cambio en el grupo testigo las concentraciones de progesterona permanecieron básicamente estables durante los cuatro días del muestreo.

**Cuadro IV** Concentraciones promedio de progesterona (ng/ml), durante los cuatro días de muestreo en ovejas superovuladas y tratadas o no con rbst al momento del celo.

DÍA	TESTIGO Media $\pm$ E.E	TRATADAS Media $\pm$ E.E
3	2.83 $\pm$ 0.61 a	3.51 $\pm$ 0.53 a
4	2.90 $\pm$ 0.50 a	5.35 $\pm$ 0.50 b
5	4.14 $\pm$ 0.50 a	6.79 $\pm$ 0.50 b
6	3.04 $\pm$ 0.55 a	7.80 $\pm$ 0.69 b
Promedio	3.23 $\pm$ 0.27 c	5.86 $\pm$ 0.28 d

a,b Valores que no comparten literal, en el mismo renglón, son significativamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ).

c,d Las concentraciones promedio de progesterona en el grupo tratado son significativamente más elevadas que las del grupo testigo ( $P \leq 0.01$ ).

Seis de las quince ovejas del grupo testigo presentaron regresión prematura de los cuerpos lúteos ya que sus concentraciones de progesterona cayeron por debajo de 1 ng/ml en el día 6 o antes. En el grupo tratado no se presentó ningún caso de luteólisis prematura. En la figura I se muestran las concentraciones de progesterona individuales de las ovejas que sufrieron regresión prematura del cuerpo lúteo.

En el cuadro IV se observa que las concentraciones de progesterona fueron significativamente más elevadas en el grupo tratado que en el testigo ( $P \leq 0.05$ ). Esta diferencia se debió a que en el grupo tratado, las concentraciones de la hormona se elevaron significativamente el día 3 y 4, y continuaron elevándose hasta el día 6, cuando llegaron a ser más del doble que las presentes en el día 3. En cambio en el grupo testigo las concentraciones de progesterona permanecieron básicamente estables durante los cuatro días del muestreo.

**Cuadro IV** Concentraciones promedio de progesterona (ng/ml), durante los cuatro días de muestreo en ovejas superovuladas y tratadas o no con rbst al momento del celo

DÍA	TESTIGO Media $\pm$ E.E	TRATADAS Media $\pm$ E.E
3	2.83 $\pm$ 0.61 a	3.51 $\pm$ 0.53 a
4	2.90 $\pm$ 0.50 a	5.35 $\pm$ 0.50 b
5	4.14 $\pm$ 0.50 a	6.79 $\pm$ 0.50 b
6	3.04 $\pm$ 0.55 a	7.80 $\pm$ 0.69 b
<b>Promedio</b>	<b>3.23 <math>\pm</math> 0.27 c</b>	<b>5.86 <math>\pm</math> 0.28 d</b>

a,b Valores que no comparten literal, en el mismo renglón, son significativamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ).

c,d Las concentraciones promedio de progesterona en el grupo tratado son significativamente más elevadas que las del grupo testigo ( $P \leq 0.01$ ).

Seis de las quince ovejas del grupo testigo presentaron regresión prematura de los cuerpos lúteos ya que sus concentraciones de progesterona cayeron por debajo de 1 ng/ml en el día 6 o antes. En el grupo tratado no se presentó ningún caso de luteólisis prematura. En la figura 1 se muestran las concentraciones de progesterona individuales de las ovejas que sufrieron regresión prematura del cuerpo lúteo.

Sin embargo las diferencias en las concentraciones de progesterona detectadas, entre ovejas tratadas y ovejas testigo no se debieron exclusivamente a la presencia de regresión lútea prematura en las ovejas testigo. Así al comparar las concentraciones de progesterona exclusivamente de aquellas ovejas que no sufrieron regresión lútea prematura (Cuadro VI), se continúa observando una concentración mayor en las ovejas tratadas que en las testigos, en todos los días del muestreo, aunque las diferencias entre grupos solamente fueron significativas en el día 4 y en el 6.

**Cuadro VI** Concentraciones promedio de progesterona (ng/ml), en las ovejas que no presentaron luteólisis prematura durante los días de muestreo.

Día	Testigo Media ± E.E	Tratadas Media ± E.E
3	2.38 ± 1.07 a	3.55 ± 0.53a
4	3.49 ± 0.69 a	5.35 ± 0.51b
5	6.07 ± 0.69 a	6.79 ± 0.51a
6	5.18 ± 0.84 a	7.79 ± 0.70b
Promedio	4.28 ± 0.41 c	5.87 ± 0.28 d

ab,c,d Diferente literal, en el mismo renglón, indica diferencia significativa entre tratamientos (P≤0.05).

Comparando el número de cuerpos lúteos entre las 8 ovejas control que no presentaron regresión prematura del cl. y las 15 ovejas tratadas (Cuadro VII), no se encontraron diferencias significativas, ni en el número total de cls., ni en el de cls. normales o en regresión.

**Cuadro VII** Cuerpos lúteos totales, normales y en regresión, en las ovejas que no presentaron luteólisis prematura durante los días de muestreo.

Grupo	n	Cls. Totales Media ± E.E	Cls. Normales Media ± E.E	Cls. Regresión Media ± E.E
Testigo	8	12.75 ± 2.94 a	12.50 ± 3.0 a	0.25 ± 0.25 a
Tratadas	15	16.80 ± 1.75 a	16.80 ± 1.75a	0.00 ± 0.00 a

ab, Diferente literal, en la misma columna, indica diferencia significativa entre tratamientos (P≤0.5).

## EMBRIONES.-

Del total de las 30 ovejas testigo en el experimento I, se dividieron en dos grupos que diferían en el tipo de servicio, 15 fueron asignadas a Inseminación Artificial por laparotomía, y a las otras 15 se les dió servicio por monta natural, al igual que a las 30 tratadas con rbst.

Debido a esta variación tomaron únicamente en cuenta, para la comparación de embriones, las ovejas que fueron servidas por monta natural. De ellas a 5 ovejas del grupo testigo y 7 del grupo tratado no fue posible extraerles los embriones debido a que presentaban adherencias.

En cuanto al número total de cts. en ambos grupos que fueron intervenidos para la recuperación de embriones el día 6 postratamiento, no se encontraron diferencias estadísticas significativas ( $12.10 \pm 1.43$  vs  $16.17 \pm 1.36$  en el grupo tratado y testigo respectivamente  $P \leq 0.5$ ). Al comparar el número de cuerpos lúteos con el número de estructuras recuperadas se observó que la eficiencia en la recuperación embrionaria fue mayor para el grupo testigo ( $73.55\%$  vs  $40.86\%$   $P \leq 0.5$ ). En el cuadro VIII se observa que no existieron diferencias significativas entre ovejas tratadas y ovejas testigo en cuanto al número de embriones recuperados, ni en el número de embriones transferibles.

**Cuadro VIII** Número de estructuras totales (embriones +ovocitos), embriones y embriones transferibles, recuperados a partir de ovejas superovuladas y tratadas o no con rbst al momento del estro.

	Testigo (n=10)	Tratadas (n=23)
	Media $\pm$ E.E	Media $\pm$ E.E
Estructuras Totales (ovocitos + embriones)	$8.80 \pm 1.42$	$6.60 \pm 1.09$
Embriones	$5.80 \pm 1.20$	$5.13 \pm 0.71$
Embriones Transferibles	$5.30 \pm 1.10$	$4.30 \pm 0.71$

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



En cuanto al porcentaje de embriones fertilizados, este fue mayor en el grupo tratado que en el testigo (Cuadro IX ) y no se encontraron diferencias en cuanto al porcentaje de embriones transferibles (Cuadro X)

**Cuadro IX** Porcentajes de fertilización de embriones colectados el día 6 postratamiento en ovejas superovuladas tratadas o no con rbst

Grupo	n	Total de estructuras	Ovocitos Fertilizados	Embriones	Porcentaje Fertilización
Testigo	10	88	30b	58	65.90 % a
Tratadas	23	152	34a	118	77.63 % b

ab, Diferente literal, en la misma columna, indica diferencia significativa entre tratamientos ( $P \leq 0.5$ ).

**Cuadro X** Número y porcentaje de embriones transferibles colectados al día 6 postratamiento en ovejas tratadas o no con rbst.

Grupo	n	Total Embriones	Embriones Trasferibles	Embriones No Transferibles	Porcentaje de Embriones Transferibles
Testigo	10	58	53	5	91.37a
Tratadas	23	118	99	19	83.89a

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

Al evaluar cada una de las categorías de desarrollo embrionario por separado, se observó que sólo en la categoría de embriones con menos de 64 células, se encontraron diferencias a favor del grupo tratado, y una mayor cantidad de ovocitos en las ovejas del grupo testigo (34.09% vs 22.36%  $P \leq 0.5$ ). Cuadro XI.

Al comparar el porcentaje de embriones que alcanzaron cada uno de los estadios de desarrollo se observó que solamente hubo una diferencia significativa en el porcentaje de embriones con menos de 64 células (Cuadro XI).

**Cuadro XI** Comparación de las diferentes categorías de clasificación, de las estructuras recolectadas al día 6 postratamiento en ovejas superovuladas y tratadas o no con rbst.

Grupo	Total de Estructuras	Ovocitos	Embriones hasta 64 cel	Morulas	Blastocistos
	n	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Testigo	88	30(34.09) b	2 (2.27) a	28(31.81) a	28(31.81) a
Tratadas	152	34(22.36) a	19 (12.50) b	44(28.90) a	55(36.18) a

ab. Diferente literal, en la misma columna, indica diferencia significativa entre tratamientos ( $P \leq 0.5$ ).

Cuando se compararon los blastocistos obtenidos en ambos grupos se observó una mayor proporción de blastocistos iniciales en el grupo testigo y mas blastocistos expandidos en el grupo tratado (Cuadro XII). Los blastocistos del grupo tratado tuvieron una mayor tendencia que los del testigo a agruparse en las categorías indicativas de un mayor desarrollo, como son la de blastocisto en expansión, en eclosión y eclosionado. Al comparar los blastocistos en cuanto a un desarrollo inicial o avanzado, se encontró que las ovejas del grupo testigo presentaron mayores porcentajes de blastocistos en un estado de desarrollo inicial y por el contrario las ovejas del grupo tratado presentaron mas blastocistos en estados avanzados (Cuadro XIII).

**Cuadro XII** Comparación de las diferentes clases de blastocistos, de acuerdo a su desarrollo obtenidos el día 6 postratamiento a partir de ovejas superovuladas, tratadas o no con rbst.

Grupo	n	Inicial	Maduro	Expansión	Eclosión	Eclosionado
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Testigo	28	11 (39.28)b	8 (28.57)a	0 (0.00)a	2(7.14)a	7(25.00)a
Tratadas	55	6 (10.90)a	15 (27.27)a	13 (23.63)b	6(10.90)a	15(27.27)a

ab, Diferente literal, en la misma columna, indica diferencia significativa entre tratamientos ( $P \leq 0.5$ ).

**Cuadro XIII** Comparación de las clases de blastocistos de acuerdo a su avance de desarrollo.

Grupo	n	Inicial	Avanzados
		n (%)	n (%)
Testigo	28	11 (39.28)b	17 (60.71)a
Tratadas	55	6 (10.90)a	49 (89.09)b

ab, Diferente literal, en la misma columna, indica diferencia significativa entre tratamientos ( $P \leq 0.5$ ).

## RELACION PROGESTERONA Y DESARROLLO EMBRIONARIO

Al evaluar las concentraciones de progesterona en las ovejas del grupo tratado, de acuerdo al grado de desarrollo de los embriones colectados (Cuadro XIV), se encontró que aquellas ovejas que habían producido blastocistos, en cualquiera de sus etapas, produjeron cantidades notoriamente superiores que las ovejas que solamente produjeron embriones en etapas tempranas de desarrollo.

**Cuadro XIV** Concentraciones promedio de progesterona en ovejas tratadas que produjeron embriones en fase de desarrollo de blastocistos (inicial, maduros, expandidos, en eclosión, y eclosionados), y en ovejas con embriones de menor desarrollo.

Grupo	n	Media $\pm$ E.E (ng/ml)
Con Blastocistos	5	7.79 $\pm$ 0.52 a
Sin Blastocistos	10	4.93 $\pm$ 0.31 b

ab, Diferente literal, en la misma columna, indica diferencia significativa entre tratamientos ( $P \leq 0.5$ ).

### EXPERIMENTO II.-

El tratamiento con rbST no afectó en forma global el número total de folículos antrales (Cuadro XV). Sin embargo las ovejas del grupo tratado presentaron un mayor porcentaje de folículos de más de 2 mm de diámetro, mientras que las ovejas del grupo testigo presentaron un porcentaje mayor de folículos menores a los 2 mm (Cuadro XVI).

En lo que respecta al desarrollo folicular posterior a la aplicación de rbST (Cuadro XVII), no se encontraron diferencias en el diámetro folicular ni en las concentraciones de estradiol folicular a las 24 h después de aplicado el tratamiento.

A pesar de que la intervención quirúrgica se efectuó a las 24 hrs de haberse aplicado el tratamiento, se encontraron evidencias de que varias de las ovejas ya habían ovulado, sobretodo en el grupo tratado. El 45.45% de las ovejas del grupo tratado presentaban cuerpos hemorrágicos, mientras que sólo se presentó un 18.18% en las ovejas testigo, aunque la diferencia no fue

estadísticamente diferente. Lo anterior hace suponer que la rbSt podría haber adelantado tanto el proceso de ovulación.

**Cuadro XV** Número de folículos presentes a las 24 h después de la aplicación de rbST al momento del celo, en ovejas.

Grupo	n	Total	X ± E.E
Testigo	11	46	4.18 ± 0.64 a
Tratadas	11	35	3.18 ± 0.61 a

ab, Diferente literal, en la misma columna, indica diferencia significativa entre tratamientos (P≤0.5).

**Cuadro XVI** Población de folículos independientes y dependientes de gonadotropinas presentes a las 24 hrs postcelo en ovejas testigo y tratadas con rbST al momento del celo.

Grupo	n	Total	Independientes (< 2mm)		Dependientes (>2mm)	
			(n)	(%)	(n)	(%)
Testigo	11	46	20	43.47 a	26	56.52 a
Tratadas	11	35	6	17.14 b	29	82.85 b

ab, Diferente literal, en la misma columna, indica diferencia significativa entre tratamientos (P≤0.5).

**Cuadro XVII** Comparación del Diámetro folicular y concentraciones de estradiol folicular en ovejas tratadas con rbST al inicio del celo y evaluadas 24 horas después.

Grupo	n	Diámetro X± E.E	Estradiol ng/ml
Testigo	11	3.91 ± 0.64 a	65.5 ± 45.6 a
Tratadas	11	3.16 ± 0.56 a	77.5 ± 55.6 a

Las diferencias entre tratamientos no son significativas (P>0.05).

**Cuadro XVIII** Número de cuerpos hemorrágicos encontrados a las 24 hrs. postratamiento y los porcentajes de ovejas que ovularon.

Grupo	n	Cuerpos Lúteos		Porcentaje de Ovulación
		Totales	Media ±E.E	
Testigo	11	2	0.18 ± 0.12 a	18.18 a
Tratadas	11	9	0.81 ± 0.37 a	45.45 a

Las diferencias entre tratamientos no son significativas (P>0.05).

## **DISCUSION**

### **EFFECTOS DE LA SOMATOTROPINA SOBRE LA PRODUCCION DE PROGESTERONA**

Uno de los efectos más relevantes de la rbST en este trabajo fue el aumento de la progesterona durante los primeros 6 días postratamiento, lo que reafirma la capacidad de la rbST para aumentar las concentraciones circulantes de progesterona cuando es aplicada al inicio del celo o la fase lútea temprana (Lucy et al 1994; Morales et al 1994).

Parte de este incremento en la concentración circulante de progesterona se debió a que la rbST mantuvo un mayor número de Cuerpos lúteos (cl's).

Esta mayor prevalencia de los cl's al momento de la laparotomía, puede ser el resultado de varios cambios tanto a nivel del desarrollo folicular como en el propio cuerpo lúteo funcional.

### **EFFECTOS DE LA rbST SOBRE EL DESARROLLO FOLICULAR PERIOVULATORIO**

En el experimento II, en el cual se evaluaron los efectos de la rbst durante las primeras 24 h posteriores a su administración en ovejas que no habían sido superovuladas no fue posible encontrar una alteración en el diámetro promedio de los folículos, ni en las concentraciones de estradiol presentes en el fluido folicular; sin embargo la administración de rbst si modificó la composición de la población folicular de acuerdo a su diámetro externo, incrementando el número de folículos dependientes de gonadotropinas (< 2mm) y reduciendo a la vez la población de folículos no dependientes de gonadotropinas (> 2mm). Resultados similares encontraron Gong et al,1996 al aplicar 12.6 mg de rbST a partir del día 5 hasta el 12 del ciclo estral en ovejas.

El tratamiento con rbST no logró afectar el número total de folículos antrales ( $34.4 \pm 2.6$  n= 9 vs  $31.3 \pm 1.4$  n=7,  $p \geq 0.2$ ), pero sí modificó la población de folículos de 2.1 - 3.0 mm ( $9.2 \pm 0.7$

vs  $13.8 \pm 1.1$   $p=0.02$ ) y la población de 3.1 - 4.0 mm. tendió a ser mayor ( $p=0.09$ ), y se redujo la de 1.0 - 2.0 mm ( $p= 0.07$ ).

Este efecto de la rbST sobre el desarrollo folicular, posiblemente se debe a un incremento en la viabilidad de los folículos dependientes de gonadotropinas, que previamente habían sido estimulados por la FSH (endógena), y por un incremento de los folículos que responden a las gonadotropinas, tanto por la estimulación previa de la FSH como por la acción de la misma rbST (Gong et al 1993), la cual a su vez promovió su maduración conjuntamente con una posible amplificación de la acción de la FSH sobre el folículo (Herrler et al 1994).

Es posible que esta acción de la rbst sobre los folículos no sea directa, ya que no se han encontrado receptores para esta hormona dentro de los folículos (Lucy et al 1993 b), los cuales poseen cantidades considerables de estrógenos, que podrían estar inhibiendo la expresión del gen que codifica el receptor para la hormona del crecimiento (Domene et al 1992), ya que al luteinizarse parcialmente la pared de los folículos se logra la expresión de este receptor.

Es poco probable que los efectos de la rbst sean mediados por un incremento de las concentraciones circulantes de las gonadotropinas (Schemm et al 1990). Gong et al 1996 no encontró que la rbST modificara las concentraciones globales promedio de FSH y LH entre el 5 al 12 del ciclo estral de la oveja .

De lo anterior se desprende que la rbST estimula el desarrollo folicular por mecanismos indirectos que modulan la acción de las gonadotropinas en las células foliculares, (Campbell et al 1995).

Varios autores han encontrado que la rbST al aplicarse en bovinos, eleva considerablemente los niveles de IGF-I (Stanko et al 1994, Herrler et al 1994, Tanneta et al 1995 Gong et al 1996). En ovejas se ha encontrado que la secreción de IGF-I varía con las fases del ciclo estral, teniendo su mayor producción en la fase folicular (Ekery et al 1994). Para confirmar el posible efecto de los IGF-I, sobre el desarrollo folicular en la oveja, Campbell et al 1995 trabajaron con ovejas en las

cuales se autotransplantaron los ovarios para determinar los efectos in vivo de una infusión de un análogo de IGF-I que fue modificado en su bioactividad para reducir su afinidad a las proteínas ligadoras de IGFs, y encontraron como resultado un agudo y prolongado estímulo en la producción de esteroides ováricos, indicando con esto que los IGF-I pueden actuar in vivo para aumentar la producción de hormonas por los folículos dependientes de gonadotropinas. Lo anterior se ha visto reforzado por trabajos recientes de Gong et al 1995 quién al trabajar con ovejas a las cuales se les suprimió la secreción de gonadotropinas endógenas, por medio del tratamiento con un agonista de GnRh, obtuvieron una mejor respuesta en el desarrollo folicular en las ovejas tratadas con rbST, confirmando que este efecto sobre el ovario se deba posiblemente a la acción de los IGFs, sobre el ovario y no sobre la hipófisis.

En estudios in vitro de los efectos de los IGF-I sobre la diferenciación y proliferación de las células de la granulosa de bovino, se observó que los IGF-I modifican la producción de esteroides estimulada por la FSH (Spicer y Echtenkamp, 1995).

Además de los factores anteriormente mencionados, la rbST puede estar afectando el desarrollo folicular al modificar las concentraciones periféricas de ciertas hormonas metabólicas, como la Somatotropina (ST) e Insulina, además de los propios IGF'S. Gong et al 1996 encontró una correlación entre el promedio global de las concentraciones circulantes de la somatotropina, insulina e IGF-I y el incremento en el diámetro folicular en la oveja.

Aunado al mayor desarrollo folicular, en el grupo tratado del experimento II se encontró que al momento de la laparotomía varias ovejas ya presentaban cuerpos lúteos de una conformación completa a pesar de que dicha laparotomía se realizó tan sólo 24 h después del inicio del estro. Esto podría significar que por efecto de la rbST las ovulaciones ocurrieron anticipadamente y/o el proceso de luteinización ocurrió más rápidamente.

## **rbST Y LA TASA OVULATORIA .-**

En diversos estudios en los que se ha aplicado la rbst al momento de la inseminación en bovinos (Herrler et al 1994), o el último día de la superovulación en la oveja (Cognie et al 1992), no se ha logrado incrementar la tasa ovulatoria. En vacas lecheras, el aumento en la tasa ovulatoria sólo se ha visto cuando la rbst es aplicada con un mínimo de 72 h antes del inicio del tratamiento superovulatorio (Keuhner et al 1993), ya que este es el tiempo mínimo requerido, en el bovino, para que la rbst aumente el número de folículos antrales susceptibles a las gonadotropinas (Gong et al 1993).

A diferencia de los trabajos anteriormente mencionados, la aplicación de rbst a las ovejas en el presente trabajo fue al momento de la aparición del celo lo cual sugiere la posibilidad de que en tan sólo 24 h la rbst, logró estimular un mayor crecimiento folicular en la oveja superovulada, lo que dió como resultado una mayor tasa ovulatoria. Sin embargo, cabe aclarar que la contabilización del número de cuerpos lúteos se realizó hasta el día 6 postinseminación y que en varias de las ovejas testigos se detectaron cuerpos lúteos con regresión prematura, determinada a través de la medición de las concentraciones circulantes de progesterona, por lo que el número de cls al momento de la laparotomía pudo estar influenciado mas por la desaparición de estructuras debido a la luteólisis prematura. Esto parece confirmarse por el hecho de que si solamente se toman en cuenta aquellas ovejas que no presentaron luteólisis prematura, el número de cuerpos lúteos es similar en ambos grupos.

Por lo anterior es posible que más que modificar la tasa ovulatoria, la rbst logró mantener la viabilidad funcional de los cuerpos lúteos, evitando de alguna manera la regresión prematura en las ovejas tratadas.



## FUNCION LUTEA Y PRODUCCION DE PROGESTERONA

Algunos autores han informado que la rbst estimula el crecimiento y la función del cuerpo lúteo (Lucy et al 1994 a), lo cual se refleja en un mayor peso de los cls en las ovejas y vacas tratadas (Juengel et al 1994, Lucy et al 1992, Lucy et al 1993a). El efecto estimulador de la rbST sobre el peso y la esteroidogénesis del cl se asume que puede ser producido por varias vías.

La primera posibilidad es que la hormona de crecimiento estimule la conversión de células lúteas pequeñas en células lúteas grandes durante el desarrollo del cuerpo lúteo.

En rumiantes se ha encontrado evidencia tanto morfológica (Cran 1983), como inmunológica (Alila y Hansel, 1984), que apoya la posibilidad de que las células lúteas pequeñas, sometidas a ciertos estímulos hormonales pueden convertirse en células lúteas grandes. Así, Farin 1988, al aplicar 300 U.I. de LH por 2.5 días, durante la fase lútea temprana en ovejas, logró incrementar la proporción de células grandes sin afectar el tamaño de las células tanto grandes como pequeñas.

Se piensa que la rbst podría lograr este mismo efecto de redistribución de las poblaciones celulares mediante la modificación de los patrones de secreción de la LH, lo que provocaría un incremento en la producción de progesterona al aumentar la proporción de las células que la producen en mayor cantidad (Lucy et al 1994b). La evidencia sobre la capacidad de la rbST para modificar los patrones de secreción de LH es controversial, ya que en tratamientos largos de rbST en vacas no se han encontrado diferencias en las concentraciones de LH (Hall et al 1994), excepto en su frecuencia de secreción durante la primera fase folicular (Schemm et al 1990).

Otra posibilidad es que la rbst estimula directamente la función esteroidogénica de las células lúteas. Estudios inmunohistoquímicos y análisis de ácido nucleico del ovario bovino, han demostrado que la mayor cantidad de receptores para la somatotropina se encuentran en el CL, y principalmente en las células grandes, careciendo de los mismo las células pequeñas (Lucy et al 1993). La significancia fisiológica de la presencia de receptores para somatotropina en las células

grandes parece no estar directamente relacionada con el aumento de la síntesis de progesterona, ya que estudios in vitro han demostrado que ésta no aumenta después de exponer las células lúteas de bovino a la somatotropina (Hansel et al 1988) sin embargo se ha observado que la somatotropina aumenta la síntesis de proteínas en células ováricas de hamster (Emtner et al 1990), lo que tal vez tenga como finalidad aumentar la cantidad de enzimas que intervienen en las diferentes fases de la síntesis de esteroides ováricos, sobre todo de la encargada de transformar el colesterol a pregnenolona, la enzima 20-22 desmolasa (P450), y la que transforma de pregnenolona a progesterona, la 3 $\beta$  hidroxisteroide deshidrogenasa (3  $\beta$ HSD). Juengel et al 1994, tratando de determinar si la Somatotropina es requerida para el desarrollo lúteo normal en la oveja, hipofisectomizó 16 ovejas en el día 5 del ciclo estral y aplicó en forma independiente o combinada lh y somatotropina, y evaluó su efecto sobre la concentración de progesterona, peso lúteo y concentración de RNAm que codifica para P450 y 3 $\beta$ -HSD, obteniendo como resultado que la aplicación sola de rbST aumentó a un nivel intermedio las concentraciones de P450 y 3 $\beta$ -HSD.

Una tercera posibilidad es que la rbst por su capacidad de influir en el metabolismo de los carbohidratos y sobre todo en el de los lípidos, podría modificar las concentraciones de algunos sustratos necesarios para la síntesis de esteroides en las células lúteas, como por ejemplo las Lipoproteínas. Estudios in vitro han demostrado que además de usar las Lipoproteínas de Alta y Baja Densidad (HDL y LDL) para incrementar la producción de progesterona (Wiltbank et al 1994), las células lúteas las utilizan para múltiples procesos celulares, como la modulación de la producción diferencial de IGF-1 por las células pequeñas y grandes, así como para estimular la proliferación celular de las células lúteas pequeñas esteroideogénicamente inactivas, y para el mantenimiento de las células grandes esteroideogénicamente activas (Boa et al 1994, Boa et al 1994b). Burke et al 1994, al evaluar el efecto de la infusión de lípidos en la oveja durante la fase media o tardía del diestro, observó que se produjo un incremento en las concentraciones séricas y totales de progesterona y colesterol.

Una cuarta posibilidad es que los efectos de la hormona del crecimiento sobre el cuerpo lúteo sean mediados por la serie de factores de crecimiento que son producidos tanto a nivel ovárico como hepático, poco tiempo después de la administración de la rbST (Lucy et al 1994), los cuales pueden afectar las funciones de los diferentes tipos celulares que constituyen el cuerpo lúteo maduro (células lúteas grandes, células lúteas pequeñas, células endoteliales, fibroblastos, y células inmunes).

El efecto de los diferentes factores de crecimiento sobre la producción de progesterona varía de acuerdo a la fase de desarrollo del cl, por lo que en la etapa temprana tienen una influencia notoria los factores de crecimiento TGF, EGF (Murray et al 1994) e IGF-1 (Breen et al 1993) y tanto en las etapas intermedias como final la mayor influencia es del IGF-1 (Breen et al 1994).

El cuerpo lúteo, al igual que la glándula mamaria, es de los órganos mas irrigados (Wiltbank, 1994), sus vasos sanguíneos son de naturaleza fenestrada, y tienen una gran superficie de contacto con las membranas plasmáticas de las células lúteas (60%), lo que favorece el fácil intercambio de proteínas y hormonas entre las células lúteas y la corriente sanguínea.

Con base a lo anterior, es posible que el efecto angiogénico y de aumento en el flujo sanguíneo (35%), que se observa a nivel de la glándula mamaria en las vacas lecheras tratadas con rbST (Davis et al 1988), también sucedan en el cuerpo lúteo, lo que implicaría un mayor aporte de nutrientes y sustratos para la síntesis de esteroides, así como un posible aumento en el peso del cuerpo lúteo Además del posible cambio en la coloración.

## **rbST Y LA REGRESIÓN LÚTEA TEMPRANA.**

Un alto porcentaje de ovejas del grupo testigo (40%) presentaron luteólisis prematuras durante los días de muestreo, sin embargo ninguna de las ovejas que recibió el tratamiento de rbst presentó declinación en sus concentraciones circulantes de progesterona.

Se ha sugerido que los cls de vida corta resultan de un incremento en la estimulación estrogénica del mecanismo de luteólisis durante la fase lútea temprana, y que la luteólisis prematura se previene al suprimir la secreción de estradiol (Beard et al 1994).

Por otro lado se ha observado que a las vaquillas que presentan un Cl maduro y se les administra rbst presentan un retardo en su luteólisis (Lucy et al 1994b).

En las vacas se ha observado que la insulina es un estimulador potente y eficaz de la producción de estradiol. Este efecto estimulatorio sobre las células de la granulosa puede ser inhibido, tanto en folículos pequeños como grandes, cuando hay la presencia de altos niveles de IGF I y II (Spicer et al 1995). En vaquillas tratadas con rbst por 21 días, se encontró que incrementaron hasta un 70 % mas los niveles plasmáticos de IGF-I, y a la vez se redujo la concentración de estradiol circulante hasta un 30% (Lucy et al 1994).

Por lo anterior, es posible que el efecto estimulatorio de la rbst sobre la producción de IGF-I produjera colateralmente una reducción en las concentraciones de estradiol, y por lo tanto no se desencadenara tempranamente la liberación de prostaglandinas por parte del útero.

Otra posibilidad es que la cantidad de tejido lúteo se haya incrementado por acción de la rbST, con el consecuente incremento en la producción de progesterona (Lucy et al 1994b). Dado que los receptores para rbST en el cl se encuentran principalmente dentro de las células grandes se cree que la rbSt puede causar una remodelación o rearreglo de la distribución de las células grandes y pequeñas, lo cual podría alterar el proceso de luteólisis. Esto se explicaría ya que las células pequeñas son las que iniciarían la luteólisis, mientras que la mayor población de las células grandes podría afectar y hacer mas tardía la luteólisis.

Otra de las posibles vías por las que el número de regresiones lúteas se pudo haber reducido en el grupo tratado, es que al modificarse las relaciones entre las poblaciones de células grandes y pequeñas posiblemente también se hayan modificado sus mecanismos de comunicación y regulación metabólica, tanto intra como intercelulares. Estudios de perfusión en cultivos celulares de células lúteas grandes y pequeñas, para conocer los sistemas de comunicación intercelulares en el cuerpo lúteo (Del Vecchio et al 1994) sugieren que el proceso luteolítico podría involucrar tanto a las células pequeñas como a las grandes. Al efectuar la perfusión para que los medios fluyeran desde las células pequeñas hacia las células grandes dió como resultado que la producción de progesterona declinara, mientras que al dirigir la perfusión desde las células grandes hacia las pequeñas, la producción de progesterona se mantuvo estable.

Esta comunicación entre células es posible que se realice aun sin que éstas mantengan contacto directo célula a célula, por lo que se cree que exista a través de una serie de metabolitos, entre ellos el ácido araquidónico, ya que al adicionarlo, los efectos inhibitorios sobre la producción de progesterona de las células pequeñas sobre las grandes desaparecen. Otro factor que pudo contribuir es que los IGFs que se producen por efecto de la rbST, estimulan la producción de la enzima fosfoinositida 3-cinasa (PI-3cinasa), la cual tiene la capacidad de prevenir la apoptosis e incrementar la síntesis de DNA en cultivos de células lúteas bovinas (Davis et al 1994).

El hecho de que las ovejas con regresión lútea prematura presentaran estructuras lúteas aparentemente normales a la vista al momento de la laparotomía se debe a que la luteólisis funcional generalmente precede a la luteólisis morfológica. En otras palabras, cambios morfológicos a nivel microscópico que se han asociado con la regresión lútea, entre ellos la apoptosis, suceden después de que se ha presentado una declinación importante en las concentraciones de progesterona (Juengel et al 1993; Raffin et al 1994).

## **rbST y EL DESARROLLO EMBRIONARIO**

A pesar de haberse encontrado diferencias a favor del grupo tratado en el número de cls al momento de la laparatomía, el número de estructuras embrionarias recuperadas fue similar, y por lo tanto el grupo testigo al tener menor número de cls pero igual número de embriones recolectados, presentó una eficiencia de recuperación embrionaria mayor (73.55 % vs 40.86%  $p > 0.05$ ). Existe la posibilidad de que un número de cls del grupo tratado no se hayan derivado de ovulaciones, sino de la luteinización de folículos antrales, lo que provocaría que no se derivaran embriones de ellos (Murray et al 1994; Mogoffin y Weistman, 1995). Normalmente los folículos primordiales presentan células de la granulosa que conforme proliferan empiezan a ser activas, pero no es hasta que alcanzan a tener 3 o 4 capas de células que las células intersticiales tecales (TIC) expresan los receptores para LH y se diferencian en células esteroidogénicas. Se cree que los IGF-I pueden estimular esta diferenciación en folículos preantrales y provocar que se hagan responsivos a la LH (Mogoffin et al 1995). Esto podría explicar por que en el segundo experimento la rbst no modificó la tasa ovulatoria pero sí se encontró una fuerte tendencia a un mayor número de cls formados a un tiempo mas temprano

Otra posibilidad es que el transporte y desarrollo de los embriones se hubiese alterado, y por lo tanto se desfasara del día de la recolección, encontrándose en consecuencia un menor número de embriones el día del lavado. Esto es apoyado parcialmente por el hecho de que el día del lavado, que corresponde al día 6 postservicio, se encontraron zonas pelúcidas sueltas, las cuales se suponen son vestigios de los embriones que normalmente eclosionan hasta el día 8 o 9 postservicio (Guillomot 1995; Wintenberger y Claude 1990).

Con respecto al desarrollo embrionario, la rbst logró incrementar la tasa de desarrollo de los embriones como lo demuestra el hecho del mayor número de blastocistos en estado avanzado en el grupo tratado. Este efecto en el desarrollo embrionario puede deberse a cambios fisiológicos en el

medio donde se desarrollan los embriones, específicamente en el oviducto (Kerbler et al 1994). Es ampliamente conocido que las células del oviducto por sí solas, tienen un efecto benéfico sobre el desarrollo embrionario, ya que los embriones cultivados en medios simples presentan un desarrollo retrasado en comparación con los cultivados en medios suplementados con co-cultivos de células oviductuales (Kincy et al 1994; Long et al 1994; Rexroad et al 1991)

Por otro lado, se ha encontrado que en vacas ciclando y conejas gestantes, en el tiempo en que el embrión transita por el oviducto, este secreta niveles elevados de factores de crecimiento, sobre todo de IGF-I (Kerbler et al 1994; Kincy et al 1994) y a su vez los embriones de diferentes especies entre ellas las ovejas, ya presentan receptores y ligandos para los factores de crecimiento IGF-I, IGF-II, TGF- $\alpha$ , bFGF, TGF- $\beta$ , Insulina (Heyner et al 1993; Watson et al 1994; Forcier et al 1994; Shi et al 1994), por lo que es probable que exista un circuito parácrino entre el epitelio del oviducto y el embrión ovino.

Los principales efectos de los factores de crecimiento sobre el desarrollo embrionario temprano han sido evaluados in vitro al ser adicionados al medio de cultivo, y midiendo algunas variables, como vías anabólicas, tasa de división celular o la tasa de desarrollo. De esta manera se ha encontrado que los IGF-I e IGF-II logran incrementar la síntesis de proteína, afectando así la proliferación celular e incrementando la tasa de formación de blastocistos (Harvey y Kaye 1988, Harvey et al 1991, Schultz et al 1996). Otro factor de crecimiento importante es el TGF- $\alpha$  ya que tiene la capacidad, además de acelerar el desarrollo embrionario, de estimular la cavitación y expansión del blastocele (Larson et al 1992) y junto con los EGF pueden incrementar la proporción de blastocistos eclosionados de la zona pelúcida (Watson et al 1994).

Además de la influencia directa de los factores de crecimiento sobre el mayor desarrollo embrionario en el grupo tratado, es factible que las altas concentraciones de progesterona circulante, pudiesen haber contribuido también en el desarrollo de los embriones, como lo demuestra el hecho de que las ovejas que produjeron blastocistos, en cualquiera de sus fases de desarrollo, produjeron

cantidades superiores de progesterona que las que no produjeron blastocistos. Es factible que al incrementar las concentraciones de progesterona materna se pueda proveer de un mejor ambiente para el desarrollo del embrión (Zheng et al 1994), ya que existe una relación entre la viabilidad del embrión, medida por su capacidad de síntesis de Interferón-t y por lo tanto su capacidad de respuesta en el momento del reconocimiento materno de la gestación, y la concentración de progesterona materna ( $r=0.593$   $p=0.0006$ ) (Kerbler et al 1994). Este posible efecto benéfico de la progesterona materna sobre el desarrollo embrionario es posible que sea a través de otros elementos como los factores de crecimiento, ya que en la ratona se ha encontrado que al administrar progesterona durante el periodo de preimplantación en el útero se logra la expresión del gen para los IGF-1 (Kapur et al 1992), y se regula la expresión del receptor para el EGF (Das et al 1994).



## CONCLUSIONES

Se concluye que la administración de rbST en el día de la inseminación de ovejas superovuladas, provocó un aumento en las concentraciones promedio de progesterona circulante. Este aumento parece ser debido principalmente a una disminución en la incidencia de regresión prematura del cuerpo lúteo, aunque no se descarta una posible estimulación del desarrollo o función lútea. La administración de rbST estimuló el desarrollo embrionario, lo que puede deberse a las mayores concentraciones de progesterona en los animales tratados, o bien a efectos de la rbst sobre el embrión o sobre la producción oviductal de factores de crecimiento.

## LITERATURA CITADA

- Alila, H.W. and Hansel, W.: Origin of different cell types in the bovine corpus luteum as characterized by specific monoclonal antibodies. Biol. Reprod. 31:1015-1025 (1984).
- Armstrong, T.D., Xia, P.: Differential mitogenic actions of insulin-like growth factor-I and fsh on bovine cumulus cells and granulosa cells. Theriogenology 39:181 (1993).
- Armstrong, J.D. and Benoit, A.M.: Paracrine, autocrine, and endocrine factors that mediate the influence of nutrition on reproduction in cattle and swine. An in vivo, IGF-I perspective. J. Anim. Sci. 74 suppl. 3, 18 (1996).
- Barros, C.M., Newton, G.R., Thacher, W.W., Drost, M., Plante, C., Hansen, P.J.: The effect of bovine interferon alfa 1 on pregnancy rate in heifers. J. Anim. Sci. 70: 1471 (1992).
- Bear, A.P., and Hunter, M.G.: Effect of bovine follicular fluid and exogen oestradiol on the GnRH induced short luteal phase in anoestrous ewes. J. of Reproduction and Fertility 100:1, 211-217 (1994).
- Bernal, S.G.: Avances en Producción de Leche: La Somatotropina. Vet. Méx. XXI 4 :409-414 (1990).
- Boa, B., Thomas, M.G. and Williams, G.L.: Lipoprotein modulation of steroidogenesis, insulin-like growth factor-I production and proliferation of small and concentrated large bovine luteal cells in vitro. Biology of Reproduction vol. 50/suppl. 1 abst 124 (1994).
- Boa, B., Thomas, M.G., Griffith, M.K., Ryan, D.P. and Williams, G.L.: Lipoprotein modulation of steroidogenesis, insulin-like growth factor-I production and proliferation of luteal cells from bovine corpora lutea predicted to be normal or short-lived. J. Anim. Sci. vol 72/ suppl. 1 / J. Dairy Sci. Vol 77/ suppl. 1 abst. 382 (1994)b.
- Breen, C.M., Poff, J.P. and Tsang, P.C.W.: Effects on insulin-like growth factor, platelet derived growth factor and LH on progesterone production and cell numbers in early bovine luteal culture. Biology of Reproduction vol. 50/suppl. 1 abst 399 (1994).
- Bucholtz, D.C.; Vidwans, N.M.; Herbosa, C.G., Schillo, K.K. and Foster, D.L.: LH secretion is acutely sensitive to glucosa availability. Biology of Reproduction vol. 50/suppl. 1 abst 132 (1994).
- Burke, J.M.; Carroll, D.J.; Stormshak, F.: Alteration of luteal steroidogenesis in ewes by intravascular infusion of lipid. J. Anim. Sci. 72, Suppl. 1, 384 (1994).
- Campbell, B.K., Scaramuzzi, R.J. and Webb, R.: The control of antral follicle development and selection in shepp and cattle. J. Reprod. Fertil. Suppl. 49:335 (1995).
- Cerbon, G.J.: Recuperación de embriones en ovejas superovuladas inseminadas intrauterinamente o por monta natural. Tesis de Licenciatura F.M.V.Z. UNAM. (1995).
- Clemmons, D.R.; Underwood, L.E.: Nutritional regulation of IGF-I and IGF binding proteins. Annu. Rev. Nutr. 11:393 (1991).

Cognie, Y., Poulin, N., Guérin, Y. and Martinat, N.: Administration of exogenous growth hormone in early follicular phase enhances embryo production in sheep : 12th Inter. Cong. on Anim. Reprod. 785-787 (1992).

Cohick, W.S.; Clemmons, D.R.: The insulin-like growth factor. Annu. Rev. Physiol. 55:131 (1993).

Cohick, W.S., Slepatis, R., Plaut K., & Bauman, D.E.: Effect of exogenous somatotropin on serum somatomedin-C (smc) and hepatic metabolism of lactating cows. J. Anim. Sci. 65:248 (1987)

Chen, S.H., Zanagnolo, V., Preuthipan, S., Roberts, K., Dharmarajan, A.M. : Insulin-like growth factor-I (IGF-I) potentiates estradiol-stimulated progesterone production by the rabbit corpus luteum. Biol. of Reprod. (Supl. 1):99 (1993).

Colborn, D.R., Dailey R.A., Lewis, P.E. : Effects of hCG or GnRH on fertility of ewes on a low dose of progesterone. J. Anim. Sci. vol. 72, 1/J. Dairy Sci. vol. 77, suppl. 1 abts. 662(1994).

Dalton, J.C. and Marcinkowski, D.P. : Effect of sometribove administration on LH concentration in dairy cattle. Theriogenology 41:437-445 (1994).

Das, S.K., Wang, X.N., Klagsbrun, M., Abraham, J. and Dey, S.K. : Heparin-binding EGF-like growth factor (HB-EGF) gene is expressed in the periimplantation mouse uterus and regulated by progesterone and estrogen. Biology of Reproduction vol.50/suppl. 1 abts.69 (1994).

Davis, S.R., Gluckman, P.D., Hart, I.C. & Henderson, H.V.: Effects of injecting growth hormone or thyroxine on milk production and blood plasma concentrations of insulin-like growth factor I and II in dairy cows. J. Endocr. 114:17 (1987).

Davis, S.R., Collier, R.J., Mcnamara, J.P., Head, H.H. & Sussman, D.W. : Effect of thyroxine and growth hormone treatment of dairy cows on milk yield, cardiac output and mammary blood flow. J. Anim. Sci. 66:70 (1988).

Davis, S.R., Smith, J.F., Gluckman, P.D.: Effects of growth hormone injections on ovulation rate in ewes. Reprod. Fert. and Develop. 2:173-178 (1990).

Davis, J.S., May, J.V., Keel, B.A.: Mecanisms of hormone and growth factor action in the bovine corpus luteum. Theriogenology 45:1351-1380 (1994).

Del Vecchio, R.P., Thibodeaux, J.K., Randel, R.D., Hansel, W.: Interaction between large and small bovine luteal cell in a sequential perfusion co-culture system. J. Anim. Sci. 72:963(1994)

Del Vecchio, R.P., Thibodeaux, J.K. and Hansel, W.: Interactions between large and small bovine luteal cells collected during mid- and late stages of the estrous cycle. . J. Anim. Sci. vol 72/ suppl. 1 /J. Dairy Sci. Vol 77/ suppl.1 abst. 303 (1994).

Del Vecchio, R.P., Thibodeaux, J.K., Hansel, W.: Contact associated interactions between large and small bovine luteal cells during the estrous cycle. Dom. Animal Endocrinology 12:25 (1995).

De la Sota, R.L., Lucy, M.C., Staples, C.R., Thatcher, W.W. : Effects of recombinant bovine somatotropin (Sometribove) on ovarian function in lactating and nonlactating dairy cows. J. Dairy Sci. 76:1002-1013 (1993).

Dorn, C.G. and Kraemer, D.C. : Bovine embryo Grading 1997. Texas A M College of Veterinary Medicine, Department of Physiology and Pharmacology College Station, Texas.

Eckery, D.C., Moeller, C.L., Nett, T.M., Sawyer H.R. : Recombinant bovine somatotropin (rbST, Sometribove) maintains the sensitivity of ovarian follicles to gonadotropins in hypophysectomized ewes. Biol. of Reprod. (Supl. 1):143 (1993).

Eckery, D.C., Moeller, C.L., Nett, T.M., Sawyer H.R. : Recombinant bovine somatotropin does not improve superovulatory response in sheep. J. Anim. Sci. 72: 2425-2430 (1994).

Erickson, R.P. : Recent advances in developmental genetics: Growth factors and morfogens. Biol. of Reprod. 41:109 (1995).

Esteban, E., Philip, H., Kass, Leon. D., Weaver, Joan. D., Rowe, Charles. A. Holmberg, Charles E. Franti, and H. Fred Trout.: Pregnancy incidence in high producing dairy cows treated with recombinant bovine somatotropin. J. Dairy Sci. 77:468:481(1994).

Evans, G., Maxwell, W.M.C., Wilson, H.R. : Superovulation and embryo recovery in Merino ewes. Theriogenology 41:192 (1994).

Farin, C.E., Moeller, C.L., Sawyer, H.R., Gamboni, F., and Niswender, G.D.: Morphometric analysis of cell types in the ovine corpus luteum throughout the estrous cycle. Biol. Reprod. 35: 1299 (1986).

Farin, C.E., Moeller, C.L., Mayan H., Gamboni, F., Sawyer, H.R. and Niswender, G.D. : Effect of luteinizing hormone and human chorionic gonadotrophin on cell populations in the ovine corpus luteum. Biol. Reprod. 38:413 (1988).

Farin, C.E.: Role of LH in the cellular development of ovine corpora lutea. Dissertation - Abstracts-International. -B, -Sciences-and- Engineering. 49:4, 1041 (1988).

Forcier, K.A., Williams, J.E. and Butler, J.E.: Growth factor expression in day 13-14 ovine embryos. Biology of Reproduction vol.50/suppl. 1 abts.492 (1994).

García, E.: Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koppen. Instituto de Geografía UNAM(1981)

Geisert, R.D., Lee, C.Y., Simmen, F.A., Zavy, M.T., Fliss, A.E., Bazer, F.W., Simmen, R.C.M. : Expression of messenger 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. 45:975-983 (1991).

Girsh, E., Greber, Y., Meidan, R.: Luteotrophic and luteolytic interactions between bovine small and large luteal-like cells and endothelial cells. Biol. Reprod. 52:945 (1995).

Gong , G.J.;Bramley, T.A.; Webb, R.:The effect of recombinant bovine somatotrophin on ovarian follicular growth and development in heifers. J.Reprod. Fertil. 97:247 (1993)

Gong ,G.J., Bramley,A.T., Wilmut,I., Weeb,R. : Effect of recombinant bovine somatotropin on the superovulatory response to pregnant mare serum gonadotropin in heifers. Biol. of Reprod.48:1141-1149 (1993).

Gong , G.J.,Machride,D., Bramley, T.A., Webb,A.: Effects of recombinant bovine somatotropin, insulin-like growth factor-I and insulin on bovine granulosa cell steroidogenesis in vitro. J. Endocrinol. 143:157 (1994).

Gong , J.G., Campbell, B.K., Bramley, T.A., Webb, R.: Treatment with recombinant bovine somatotrophin enhances ovarian follicle development and increases the secretion of insulin-like growth factor-I by ovarian follicles in ewes. Animal Reproduction Science 41:13-26 (1996).

Gospodarowicz, D., Birdwell, C.R.: Effects of fibroblast and epidermal growth factors on ovarian cell proliferation in vitro. II Proliferative response of luteal cells to FGF but no EGF. Endocrinology 100:1121 (1987).

Grazul-Bilska, A.T., Redmer, D.A. Reynolds, L.P.: Secretion of angiogenic activity an progesterone by ovine luteal cell types in vitro. J.Anim. Sci. 69:2099(1991).

Grodsky,M.G. : Chemistry and functions of the hormones : II.Pituitary and hypothalamus. In :Review of Physiological Chemistry. Edited by: Harper,H.A.,Rodwell,V.W.,Mayes,P.A.,556-568. Lange Medical Publications,Los Altos,California.(1979).

Guillomot, M. :Cellular interactions during implantation in domestic ruminants. Journal of Reproduction and Fertility Supplement 49,39-51 (1995).

Guthrie,H.D., Grimes,R.W., Cooper, B.S.,Hammond,J.M.: Follicular atresia in pigs: Measurement and physiology. J. Anim. Sci. 73:2834 (1995).

Hall, J.B., Schillo, K.K., Fitzgerald, B.P. and Bradley,N.W. : 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. 72:709-718 (1994).

Hansel, W. and Blair, R.M. : Bovine Corpus Luteum. A historic overview and implications for future research. Theriogenology 45 :1267 (1996).

Hammond, J.M., Samaras,S.E., Grimes,R., Leighton, J., Barber,J., Cannig,S.F., Guthrie,H.D.: The role of insulin-like growth factors and epidermal growth factor-related peptides in intraovarian regulation in the pig ovary. J.Reprod. Fertil. suppl.48:117 (1993).

Harvey, M.B., Kaye, P.L. : Insulin stimulates protein synthesis in compacted mouse embryos. Endocrinology 116:261 (1988).

Harvey, M.B., Kaye, P.L. : Mouse blastocysts respond metabolically to short-term stimulation by insulin and IGF-I through the insulin receptor. Mol. Reprod. Dev. 29:253-258 (1991).

Herrler, A., Einspanier, R., Schams, D., Niemann, H.: Effect of recombinant bovine somatotropin (rBST) on follicular IGF-I contents and the ovarian response following superovulatory treatment in dairy cows: a preliminary study. Theriogenology 41:3 601-611 (1994).

Heyner, S., Shah, N., Smith, R.M., Watson, A.J. and Schultz, G.A. : The role of growth factors in embryo production. Theriogenology 39: 151-161 (1993).

Hill,D.J.: Growth factors and their cellular actions. J.Reprod.Fert. 85 :723-734 (1989).

Hofig ,A., Simmen,F.A., Bazer,F.W., Simmen,R.C.M.: Effects of insulin-like growth factor-I on aromatase cytochrome P450 activity and oestradiol biosynthesis in preimplantation porcine conceptuses in vitro. J. Endocrinol. 130: 245-250 (1991)

Juengel, J.L., Garverick, H.A. Johnson, A.A., Youngquist, R.S., Smith, M.F.: Apoptosis during luteal regression in cattle. Endocrinology 132:249 (1993).

Juengel, J.L., Nett, T.M., Tandeski, T.R., Eckery, D.C., Sawyer, H.R., Niswender, G.D.: Effect of luteinizing hormone (LH) on luteal development in the ewe. Biology of Reproduction vol 50 suppl. 1 abst. 125 (1994).

Kapur, S., Tamada, H., Dey, S.K., Andrews, G.K. : Expression of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and its receptor in the peri-implantation mouse uterus and cell-specific regulation of IGF-I gene expression by estradiol and progesterone. Biology of Reproduction 46:2 208-219 (1992).

Kerbler, TL., Burh, M.M., Jordan, L.T., Lesky, K.E., Roberge, S. and Walton, J.S.: Relationship between maternal plasma progesterone and Interferon TAU synthesis by conceptus in cattle. Biology of Reproduction vol 50 suppl. 1 abst. 74 (1994).

Kuehner, L.F., Rieger, D., Walton, J.S., Zhao, X., Johnson, W.H. : The effect of a depot injection of recombinant bovine somatotropin on follicular development and embryo yield in superovulated holstein heifers. Theriogenology 40:5, 1003-1013 (1993).

Kincy, V.L., Williams, J.E., Butler, J.E.: Expression of the insulin-like growth factor II (IGF-II) gene by ovine oviductal cells. Biol. of Reprod.(Supl. 1):67 (1993).

Kincy, V.L., Williams, J.E. and Butler, J.E. : Expression of the insulin-like growth factor II (IGF-II) gene by ovine oviductal cells. Biology of Reproduction vol.50/suppl. 1 abts.68 (1994).

Kirby,C.J., Lucy, M.C., Smith,M.F., Keisler, D.H. : Follicular function of lactating dairy cows treated with sustained release bovine somatotropin (POSILAC). J.Anim. Sci. 73, suppl.1:89 (1995).

Kleeman, D.O., Walker, S.K., Seamark, R.F.: Enhanced fetal growth in sheep administered progesterone during the first three days of pregnancy. J.Repro. Ferti. 102:2, 411-417 (1994)

Ko,Y., Lee,C.-Y., Ott,T.L., Davis,M.A., Simmen,R.C.M., Bazer,F.W., Simmen, F.A.: Insulin-like growth factors in sheep uterine fluids: concentrations and relationship to ovine trophoblast protein-1 production during early pregnancy. Biol. Reprod.45:135-142 (1991).

Larson, R.C., Ignatz G.C., Currie, W.B. : Platelet derived growth factor (PDGF) stimulates development of bovine embryos during the fourth cell cycle. Development 115:821 (1992)

Letcher,R.,Simmen,R.C.M.,Bazer,F.W. and Simmen,F.A. : Insulin-like growth factor-I gene expression during early conceptus development in the pig. Biol.Reprod. 41:1143-1151 (1989).

Leeuwenberg , B.R., Hurst,P.,McNatty,K.P.: Expression of insulin-like growth factor-I (IGF-I) in the sheep ovary. Biol. of Reprod. Suppl. 1:184 (1993).

Leibfried-Rutledge, M.L. : Gene expression during early embryonic development. J.Anim.Sci. 74, Suppl.3:36 (1996).

Long ,J.A.,Dickey, J.F. and Bodine, A.B.: Bovine oviduct epithelial cell monolayers produce proteins which support embryonic development beyond the 8-cell in vitro block). Biology of Reproduction vol. 50/suppl.1 abst.65 (1994).

Lucy, M.C.; Thacher W.W.; Savio, J.D., Danet- Desnoyers, G., Moser, M.T., Badinga L., Simmen,F.A. and Collier, R.J.: Effect of bovine somatotropin on ovarian follicles, corpora lutea (CL), and embryos during early pregnancy in cattle. J. Anim. Sci. 70 suppl. 1 abst. 538 (1992).

Lucy,M.C., Curran,T.L., Collier,R.J., Cole,W.J. : Extended function of the corpus luteum and increased follicle turnover in heifers treated with bovine somatotropin. Biol. of Reprod.(Supl.1):61 (1993)a.

Lucy, M.C., Collier,R.J., Kitchell,M.L., Dibner,J.J., Hauser,S.D., Krivi,G.G. : Immunohistochemical and nucleic acid analysis of somatotropin receptor population in the bovine ovary. Biol. of Reprod. 48:1219-1227 (1993)b.

Lucy, M.C.,Byatt J.C.,Curran, D.F.,Collier R.J.: Placental lactogen and somatotropin : hormone bindin to the corpus luteum and effects on the growth and functions of the ovary in heifers. Biology Reproduc. 50:1136 (1994).

Lucy, M.C., Curran T.L., Collier, R.J. and Cole, W.J.: Extended funtion of the corpus luteum and earlier development of the second follicular wave in heifers. treated with bovine somatotropin. Theriogenology 41: 561 (1994) b.

Luyando, C., Mejia, O., Balcázar, A., Valencia, J., Zarco, L., Caballero, V. y Brito, I.: Efecto de la dosis de FSH-P sobre la respuesta ovárica; Calidad del cuerpo lúteo y recuperación embrionaria en ovinos. Congreso Nacional de Producción Ovina. Chapingo Mex. (1995).

Martin,C.R.: Textbook of Endocrine Physiology. Oxford University Press,New York,(1976) .

McCutcheon, S.N. & Bauman, D.E.: Effect of pattern of administration of bovine growth hormone on lactational performance of dairy cows. J. Dairy Sci. 69:38 (1986).

McGuire,M.A., Vicini,J.L., Bauman, D.E., Eenhuizen, V.V. : Insulin-like growth factors and binding proteins in ruminants and their nutritional regulation. J.Anim. Sci. 70:2901 (1992).

Miyamoto A., Okuda, K., Schweigert, F.J., Schams, D.: Effects of basic fibroblast growth factor, transforming growth factor- $\beta$  and nerve growth factor on the secretory function of the bovine corpus luteum in vitro. J. Endocr. 135:103 (1992).

Magoffin, D.A. and Weitsman, S.R.: Effects of insulin-like growth factor-1 (IGF-I) on luteinizing hormone receptor expression and signal transduction in ovarian theca-interstitial cells. J. Anim. Sci. 73, suppl.1:74 abstr 62 (1995).

Monget, P., and Monniaux, D.: Growth factors and the control of folliculogenesis. J. Reprod. Fertil. Suppl. 49 : 321-333 (1995)

Morales, R.S.J. : Efecto de un tratamiento corto de rbST (Lactotropina) sobre la fertilidad de vacas holstein repetidoras. Tesis de Postgrado, FMVZ, UNAM (1993).

Murray, J.F., Downing, J.A., Evans, G., Findlay, J.K., Scaramuzzi, R.J.: Changes in progesterone secretion following treatment with transforming growth factor alpha (TGF- $\alpha$ ) during the follicular phase of the sheep oestrous cycle. Journal of Reproduction and Fertility 101:3, 721-727 (1994).

Niswender, G.D., Farin, C.E., Gamboni, F., Sawyer, H.R., Nett, T.M.: Role of luteinizing hormone in regulating luteal function in ruminants. J. Anim. Sci. 62 suppl.2:1 (1986).

Nephew, K.P., Cardem, H., Mc Clare, K.F., Ott, T.L., Bazer, F.W., Pope, W.F.: Effects of administration of human chorionic gonadotropin or progesterone before maternal recognition of pregnancy on blastocyst development and pregnancy in sheep. J. Anim. Sci. 72:2,453-458 (1994).

O'Shea, J.D., Rodgers, R.J., D'Occhio, M.J.: Ultrastructural cytology of the cyclic corpus luteum of the cow. J. Reprod. Fertil. 85: 483 (1989).

Pate, J. L. : Cellular components involved in luteolysis. J. Anim. Sci. 72:1884 (1994).

Pate, J.L.: Involvement of immune cells in regulation of ovarian function. J. Reprod. Fert. 49:365-377 (1995).

Pate, J.L. : Intercellular communication in the bovine corpus luteum. Theriogenology 45:1381-1397 (1996).

Pope, W.F., Cardenas, H., Wiley, T.M., McClure, K.E.: Dose-response relationships of exogenous progesterone shortly after ovulation on estrous cycle length, blastocyst development and fertility in sheep. Anim. Repro. Sci. 38: 1-2, 109-117 (1995).

Raffin, C.A., Custer, E.E., Nay, M.G., Vecellio, L.C. and McCracken, J.A. : Plasma progesterone concentration after surgical removal of the corpus luteum in the ewe. Biology of Reproduction vol.50/suppl. 1 abstr.250 (1994).

Rexroad, C.E. and Powell, A.M.: Effect of serum-free co-culture and synchrony of recipients on development of cultured sheep embryos to fetuses. J. of Anim. Sci. 69:5, 2066-2072 (1991).

Scaramuzzi, R.J., Adams, N.R., Baird, D.T., Campbell, B.K., Downing, J.A., Findlay, J.K., Henderson, K.M., Martin, G.B., McNatty, K.P., McNeilly, A.S., Tsonis, C.G.: A model for follicles



ESTADÍSTICA NO SALLE  
DE LA BIBLIOTECA

selection and the determination of ovulation rate in the ewe. Reprod. Fert. and Devel. 5: 5, 459-478 (1993).

Schemm, S.R., Deaver, D.R., Griel, L.C.Jr., Muller, L.D. : Effects of recombinant bovine somatotropin on luteinizing hormone and ovarian function in lactating dairy cows. Biol. Reprod. 42:5, 815-821 (1990).

Schultz, G.A., Harvey, M.B., Watson, A.J., Arcellana-Panlilio, M.Y., Jones, K., Westhusin, M.E. : Regulation of early embryonic development by growth factors: Growth factor gene expression in cloned bovine embryos. J. Anim. Sci. 74, Suppl. 3:50 (1996).

Shelton, K., DeAbreu, G., Hunter, M.G., Parkinson, T.J., Lamming G.E. : Luteal inadequacy during the early luteal phase of subfertile cows. J. Reprod. Fert. 90:1 (1990).

Shi, C.Z., Dhir, R.N., Kesavan, P., Zhang, S.L., Garside, W.T., Smith R., Matschinsky and Heyner S.: Mouse embryonic stem cells express receptors of the insulin family growth factors. Biology of Reproduction vol.50/suppl. 1 abts.71 (1994).

Simmen, R.C.M., Ko, Y., Simmen, F.A.: Insulin-Like growth factors and blastocyst development. Theriogenology 39:163-175 (1993).

Spicer, L.J. : Role of growth factors in ovarian follicular steroidogenesis. J. Anim. Sci. vol. 72, Suppl. 1, 544 (1994).

Spicer, L.J., Alpizar A., Stewart, R.E.: Evidence of inhibitory effect of insulin-like growth factor-I and II on insulin stimulated steroidogenesis by nontransformed ovarian granulosa cell. Endocrine 2:735-739 (1994).

Spicer, L.J., Echtenkamp, S.E. : The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animal. Domest. Anim. Endocrinol. 12:223-245 (1995).

Srikandakamur, S., Ingrahan, R.H., Ellsworth, M., Archbald, L.F., Liao, A. and Godke, R.A.: Comparison of solid-phase, no extraction radio-immunoassay for progesterone with an extraction assay for monitoring luteal function in the mare, bitch and cow. Theriogenology 26: 779-793 (1986).

Stanko, R.L., Armstrong, J.D., Cohick, W.S., Harvey, R.W., Simpson, R.B., Hartnell, G.F., Heimer, E.P., Campbell, R.M. : Effect of daily replacement therapy with recombinant bovine somatotropin on somatotropin, insulin-like growth factor- I and onset of puberty in beef heifers immunized again growth hormone- relasing factor. J. Anim. Sci. 72:1786-1794 (1994).

Tannetta, D., Fray, M.D., Wrathall, J.H., Bleach, E.C.L., Glencross, R.G., Knight, P.G. : Effects of supplementary treatment with bovine growth hormone (bst) on hormonal and ovulatory response to inhibin immunization in the ewe. J. of Reprod. and Fert. 15: abst 58, (1995)

Tilly, J.L., Furuta, I. : A role for IGF-I in FSH-mediated suppression of apoptosis in cultured rat ovarian follicles. Biol. of Reprod. (Supl. 1):99 (1993).

Turner, C.D. and Bagnara, J.T.: General Endocrinology. 6th ed. W.B. Saunders, Philadelphia (1976).

Van der Walt, J.G. : Somatotropin Physiology - a review. S.-Afr. Tydskr. Veek., 24:1-8 (1994).

Watson, A.J., Watson, P.H., Arcellana-Panlilio, M.Y., Warnes, S., Walter, K., Schultz, G.A., Armstrong, D. T., Seamark, R.F. : A growth factor phenotype map for ovine preimplantation development. Biol. Reprod. 50:725-733 (1994).

Webb, R., Gong, J.G., Bramley, T.A.: Role of growth hormone and intrafollicular peptides in follicle development in cattle. Theriogenology 41:25-30 (1993)

Wiltbank, M.C.: Cell types and hormonal mechanisms associated with mid-cycle corpus luteum function. J. Anim. Sci. 72: 1873-1883 (1994).

Wintenberger, T.S. and Sevellec Claude: Atlas of the early development of the sheep embryo. INRA, Station de Physiologie animale. (1990).

Zhao X., MacBride, B.W.; Trouten-Radford, L.M., Golfman, L., Burton, J.H.: Somatotropin and insulin like growth factor I concentrations in plasma and milk after daily or sustained-release exogenous somatotropin administrations. Domestic Animal Endocrinology 11(2):209-216 (1994).

Zheng, J., Ricke W.T., Redmer, D.A. and Reynolds, L.P.: Morphometric analysis of progesterone receptors in the ovine uterus during early pregnancy. Biology of Reproduction 50 suppl. 1 abstr. 32. (1994).