

01673



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN ANIMAL

EFFECTO DE LA SOMATOTROPINA BOVINA SOBRE LA  
FUNCIÓN LUTEA EN OVEJAS SUPEROVULADAS Y EL  
DESARROLLO Y LA VIABILIDAD DE SUS EMBRIONES

## T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN  
PRODUCCIÓN ANIMAL

PRESENTA:

ROSA BERTA ANGULO MEJORADA

ASESOR:

DR. VICENTE OCTAVIO MEJÍA VILLANUEVA

CO-ASESOR:

MPA. ANTONIO ORTIZ HERNÁNDEZ



MÉXICO, D.F.

2004

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA

Declaración.

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



---

MVZ ROSA BERTH ANGULO MEJORADA

## **Dedicatorias.**

A Bruno, el mejor motivo en la vida que me pudo dar Dios, esperando que **TODA LA VIDA** sigamos siendo "**amiguitos**", te quiero como no te imaginas.

†A mi madre Guadalupe Mejorada Villafaña, a quien agradezco darme la vida y quien a pesar de no estar aquí, siempre me acompaña y me aconseja.

A mi padre Francisco Angulo Miranda, por ser el mejor hombre que he conocido en la vida y de quien he recibido las mejores lecciones en la vida.

A mis hermanos Rafa, Dulce, Luis, Marce y Benja, quienes me han enseñado lo que es una verdadera familia, en las buenas y en las malas.

A Arturo, Pilu, Elvia, Irma y Yolis con cariño.

A Ale, Zoyo, Viri, Mos, Arturín, Itzel, Axel, Chepis, Kentia, Ana e ¿lker?, son parte de mi vida aunque no quieran y los quiero.

A las terceras generaciones, Jonathín, Samara y los que vengan, con cariño.

A la familia Maldonado Mejorada. Gracias.

Y nuevamente a ti por ser especial y seguir junto a mí.

## Agradecimientos.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, por todos los conocimientos adquiridos.

A Toño, Chucho, Octavio, César F, Paniagua, Rick, César T, Beto y Dora.

Al personal del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Ovina por el apoyo recibido durante todo este tiempo.

Al Dr. Javier Valencia Méndez, por sus atinadas correcciones y por su amistad.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Angélica Mejorada

Rosa Berta

FECHA: 19/05/2004

FIRMA: 

## Resumen

ANGULO MEJORADA ROSA BERTA. Efecto de la somatotropina bovina sobre la función lútea en ovejas superovuladas y el desarrollo y la viabilidad de sus embriones (Bajo la dirección de Vicente Octavio Mejía Villanueva y Antonio Ortiz Hernández).

El objetivo del estudio fue el de evaluar el efecto de la somatotropina bovina sobre la función lútea en ovejas superovuladas, así como la viabilidad embrionaria. El trabajo se realizó en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Ovina, en el poblado de Tres Marías, Municipio de Huitzilac. Se utilizaron ovejas de las razas Suffolk como donadoras y Rambouillet como receptoras de entre 2 y 4 años de edad que habían parido anteriormente. A las ovejas se les sincronizó el ciclo estral con esponjas intravaginales con 40 mg de Acetato de Fluorogestona, mismas que permanecieron 9 días. A las receptoras se les aplicaron 7 mg de Dinoprost trometamina dos días antes del retiro de la esponja. Veinte ovejas Suffolk donadoras de embriones fueron superovuladas con 250 UI de FSH porcino en dosis decreciente. Una vez en celo recibieron monta cada 8 horas mientras permanecieron receptivas, se asignaron al azar en lote tratado con 10 hembras que recibieron 100 mg (0.28 ml) de somatotropina bovina en dosis única intramuscular a las 36 horas de detectarse por primera vez el estro y lote testigo con 10 hembras a las que les administraron 0.28 ml de solución salina fisiológica. La recolección de embriones se realizó por medio de laparotomía medio ventral el día 6 postservicio. Los embriones se evaluaron morfológicamente considerando transferibles a las mórulas y blastocitos calidad 1 y calidad 2. No se encontró diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) para los ovocitos  $1.56 \pm 1.43$  vs.  $1.63 \pm 0.92$ , mórulas  $4.44 \pm 1.14$  vs.  $4.0 \pm 1.40$ , blastocitos  $1.11 \pm 0.89$  vs.  $2.25 \pm 1.75$  ni las estructuras totales  $7.11 \pm 1.68$  vs.  $7.88 \pm 1.51$ . En el efecto del tratamiento sobre el número de cuerpos lúteos totales que se encontró en el grupo testigo y el tratado ( $11.11 \pm 1.02$  vs.  $13.63 \pm 1.67$ ), cuerpos lúteos normales ( $10.11 \pm 0.89$  vs.  $12.75 \pm 1.21$ ) y cuerpos lúteos en regresión ( $1.0 \pm 0.50$  vs.  $0.88 \pm 0.88$ ) y estructuras totales ( $7.11 \pm 1.68$  vs.  $7.88 \pm 1.51$ ) al llevar a cabo el análisis estadístico no se encontró diferencia significativa ( $P > 0.05$ ). Las concentraciones promedio de la progesterona plasmática (ng/ml) encontradas entre los días 1 al 6 en las ovejas testigo y en las tratadas, no fueron significativamente diferentes ( $P > 0.05$ ). La viabilidad de los embriones se evaluó tomando en cuenta la fertilidad obtenida en las ovejas receptoras, dicha evaluación se realizó mediante el parto de la oveja y se encontró en el grupo testigo que 5 ovejas de un total de 11 hembras receptoras, quedaron gestantes, lo que corresponde al 45.45 % de fertilidad y en el grupo tratado, 10 hembras de un total de 14 receptoras, quedaron gestantes, lo que corresponde a un 71.42 % de fertilidad, existiendo una diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ). La prolificidad obtenida por las hembras receptoras que recibieron embriones de las donadoras testigo y las tratadas con somatotropina bovina, obteniéndose en el grupo testigo una prolificidad de 180% y el grupo tratado 160%, encontrándose una diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ). Se concluye que la somatotropina bovina no tiene efecto sobre la función lútea en ovejas superovuladas ni sobre el desarrollo y la viabilidad de sus embriones. Palabras clave: Somatotropina, ovejas, embriones, progesterona.

## Summary

ANGULO MEJORADA ROSA BERTA. Effect of recombinant bovine somatotrophic hormone (rBST) over the luteal function in superovulated ewes and their embryos development and viability. (Directed by Vicente Octavio Mejía Villanueva y Antonio Ortiz Hernández).

The aim of this study was to evaluate the effect of recombinant bovine somatotrophic hormone (rBST) on the luteal function of superovulated ewes, as well as the embryonic viability. The experiment was carried out in an experimental center located in Tres Marías, Huitzilac, at 19° 02' lat N and 99° 16' long W. Adult ewes, between 2 to 4 years old were used as donor (Suffolk) or recipient females (Rambouillet). All ewes were synchronized for estrous with intravaginal sponges impregnated with 40 mg of fluorogestone acetate that remained in place for 9 days. Additionally, recipient ewes were injected with 7 mg of Dinoprost 2 days before sponge removal. Twenty donor ewes were superovulated with 250 UI of porcine FSH in a decreasing schedule. Once in estrous, female were mated with a fertile male every 8 hours until the end of receptivity, when they were assigned at random to the following groups, in Group I (n: 10) they were injected IM with 100 mg (0.28 ml) of bovine somatotrophin hormone 36 hours after onset of estrous, while ewes in the Control Group were injected in the same manner with saline. Embryo collection was performed via medio-ventral laparotomy 6 days after last service. Embryos were evaluated morphologically and morula and blastocyst quality 1 and 2 were considered as transferable embryos. There were no significant differences ( $P > 0.05$ ) between the treated (rBST) and control group in the number of oocytes  $1.56 \pm 1.43$  vs  $1.63 \pm 0.92$ , morulas  $4.44 \pm 1.14$  vs  $4.0 \pm 1.40$ , blastocyst  $1.11 \pm 0.89$  vs  $2.25 \pm 1.75$ , total structures  $7.11 \pm 1.68$  vs  $7.88 \pm 1.51$ , total corpus luteum number  $11.11 \pm 1.02$  vs  $13.63 \pm 1.67$ , normal corpus luteum  $10.11 \pm 0.89$  vs  $12.75 \pm 1.21$ . no differences were found also in the serum progesterone concentration in the rBST group and control group between days 1 and 6 ( $P > 0.05$ ). Embryo viability was evaluated through lambing rate in recipient receiving embryos from each group. In recipients impregnated with embryos from rBST group 45.45% lambed (5/11) been different ( $P < 0.05$ ) in those receiving embryos from the control group 71.42% (10/14). There was a difference in prolificity ( $P < 0.05$ ) between the recipients from the control and the rBST group (180 vs 160%). It is concluded that the inclusion of rBST in the superovulatory treatment has no effect on the luteal function and embryo development and viability.



## Contenido

	Página
Resumen.	II
Summary.	III
Índice de contenido.	1
Índice de figuras, cuadros y gráficas.	2
Introducción.	3
Revisión de la literatura.	5
Ciclo estral y la ovulación.	5
Reconocimiento de la gestación.	7
Desarrollo embrionario.	11
Somatotropina.	13
Material y métodos.	17
Animales.	17
Alimentación.	17
Sincronización del ciclo estral y superovulación.	18
Grupos experimentales.	18
Recolección de embriones.	19
Evaluación de la función del cuerpo lúteo.	20
Transferencia de embriones.	20
Análisis estadístico.	21
Hipótesis	22
Objetivos	22
Resultados.	23
Efecto del tratamiento en las variables estudiadas.	23
Efecto de la somatotropina en los niveles plasmáticos de progesterona.	26
Viabilidad de los embriones.	30
Discusión.	32
Conclusión.	37
Literatura citada.	38

## Índice de figuras, y cuadros.

<b>Figuras</b>	<b>Título</b>	<b>Página.</b>
Figura 1	Concentración de progesterona durante los días de muestreo en las ovejas del grupo testigo.	26
Figura 2	Concentración de progesterona durante los días de muestreo en las ovejas del grupo tratado.	27
Figura 3	Concentración promedio de progesterona durante los días de muestreo en las ovejas del grupo testigo y tratado.	28
<b>Cuadros.</b>		
Cuadro 1	Número de cuerpos lúteos encontrados por grupo.	22
Cuadro 2	Efecto de la somatotropina bovina sobre los cuerpos lúteos.	23
Cuadro 3	Embriones transferibles, no trasferibles y ovocitos no fertilizados por grupo.	23
Cuadro 4	Efecto de la somatotropina bovina sobre los ovocitos no fertilizados, embriones y estructuras totales.	24
Cuadro 5	Valores promedio ( $\pm$ E.E.) de Progesterona (ng/ml) en el grupo testigo y el grupo tratado.	25
Cuadro 6	Fertilidad de las receptoras de embriones obtenidos de donadoras tratadas con Somatotropina bovina y testigo.	29
Cuadro 7	Prolificidad de las receptoras de embriones tratadas con somatotropina bovina y no tratadas.	30

# EFFECTO DE LA SOMATOTROPINA BOVINA SOBRE LA FUNCIÓN LÚTEA EN OVEJAS SUPEROVULADAS Y EL DESARROLLO Y LA VIABILIDAD DE SUS EMBRIONES.

## 2. Introducción

En todas las especies domésticas, la pérdida prenatal alcanza niveles importantes ya que del 30 al 40% de los óvulos existentes en el momento del apareamiento o inseminación, no consiguen convertirse en embriones viables.

Diversos estudios han demostrado que la mayor parte de estas pérdidas prenatales (aproximadamente dos tercios del total) se producen durante las primeras fases de la vida embrionaria antes de la implantación; en la oveja puede incluso que no se advierta ninguna diferencia sobre la longitud del ciclo estral.<sup>1</sup>

Quizás un factor importante es la influencia pemiciosa del envejecimiento de los gametos en el tracto reproductor femenino, en el caso de que el apareamiento o bien la inseminación artificial, se lleve a cabo mucho tiempo antes o después con respecto a la ovulación.<sup>1, 2</sup> Otros factores que pueden provocar la pérdida prematura de embriones son los diversos trastornos producidos durante el periodo de preimplantación, como por ejemplo el efecto de la temperatura ambiente demasiado elevada, las tensiones metabólicas producto de una dieta irregular durante la época del apareamiento y la ovulación. También pueden presentarse trastornos endócrinos, como en el caso de ovejas que se alimentan en praderas con abundantes plantas estrogénicas. También como consecuencia de tratamientos de sincronización con base en aplicaciones de progestágenos, que si se usan en forma prolongada se puede obtener una adecuada supresión y sincronización de los estros y la ovulación, pero asociados a una baja fertilidad.<sup>1, 3</sup>

Durante el desarrollo temprano de los embriones, es necesaria la existencia de un ambiente uterino adecuado y de una serie de eventos cuidadosamente relacionados. Godkin *et al* (1982)<sup>4</sup>, identificaron una proteína secretada durante el periodo crítico en el cual se rescata el cuerpo lúteo (CL) en la borrega. Esta proteína secretada por el embrión, se denominaba anteriormente proteína trofoblástica ovina y actualmente interferón-tau ovino (oIFN- $\tau$ )<sup>4, 5, 6</sup>. También existen factores de crecimiento parecidos a la insulina (IGF-I y II) y el factor de crecimiento epidermal (EGF), que intervienen en el desarrollo de los embriones antes de su implantación y posteriormente son mediadores de la decidualización e implantación embrionaria.<sup>7</sup>

Estos factores de crecimiento, además de participar en el metabolismo embrionario estimulando la síntesis de proteínas, estimulan el crecimiento y la diferenciación de las células uterinas. De estos factores de crecimiento, el IGF-I es el mediador más importante que se produce en respuesta a la hormona del crecimiento o somatotropina.<sup>7</sup>

Hasta el momento, la mayoría de los trabajos que se han realizado utilizando somatotropina bovina, han evaluado los efectos sobre la función folicular y del cuerpo lúteo sin evaluar el efecto sobre el grado de desarrollo de embriones ovinos al momento de ser colectados. Por lo que el presente trabajo pretende llevar a cabo la evaluación del efecto de la somatotropina sobre el desarrollo de dichos embriones y la función lútea en la oveja, el porcentaje de gestación y la prolificidad.

### 3. REVISIÓN DE LA LITERATURA.

#### 3.1 El ciclo estral y la ovulación

La cadena de acontecimientos que se repiten y conducen a los periodos de receptividad sexual regulares, reciben el nombre de ciclo estral.<sup>8</sup> Las ovejas exhiben estro a intervalos regulares durante la estación reproductiva,<sup>9</sup> en la cual el ciclo estral tiene una duración aproximadamente de  $17 \pm 3$  días y un estro de 30 horas en promedio.<sup>10</sup>

El desarrollo folicular y la ovulación están regulados por una compleja interacción hormonal. La secreción hipotalámica de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) tiene su acción sobre la glándula hipofisiaria, estimulando la síntesis y la liberación de hormona luteinizante (LH) y hormona folículo estimulante (FSH).<sup>11</sup> Tanto la secreción de GnRH como la respuesta de la LH y la FSH a esta hormona se ven afectadas por el estradiol, progesterona e inhibina secretadas por los ovarios.<sup>12</sup> La progesterona tiene un efecto de retroalimentación negativa sobre el hipotálamo reduciendo la frecuencia de los pulsos de secreción de GnRH. Este efecto se traduce en la hipófisis en una disminución en la frecuencia de secreción de LH. Como resultado, durante la fase lútea los folículos ováricos no llegan a desarrollarse hasta un estado preovulatorio.<sup>11, 13</sup>

El ciclo estral de la oveja se puede dividir en dos etapas desde el punto de vista endocrinológico: Fase folicular o estrogénica y fase luteínica o progestacional.<sup>14</sup>

**Fase Folicular** (Proestro y Estro). La fase folicular es el periodo desde la regresión del cuerpo lúteo hasta la siguiente ovulación, y aparentemente es corto (dos días en la borrega). Sin embargo, la presencia de folículos antrales a través de la fase lútea sugiere que la duración real de la fase folicular es de dos a cinco días, si la "fase folicular" se refiere al periodo que va de la formación del folículo antral a la ovulación<sup>14</sup>.

En la borrega hay una segunda elevación de FSH de 20 a 30 horas después de de la oleada preovulatoria de LH y FSH, esta elevación postovulatoria de FSH provoca la formación de antro en la población folicular que incluye a los candidatos a ovularse uno o dos ciclos después<sup>15</sup>. En las borregas, este segundo pico de FSH es mucho más prolongado en animales con mayor frecuencia ovulatoria, y la magnitud de este pico se correlaciona íntimamente con el número de folículos antrales presentes en el ovario 17 días después<sup>15</sup>. Esta fase se caracteriza por un desarrollo folicular rápido y en el cual el cuerpo lúteo (CL) del ciclo anterior sufre una regresión,<sup>14</sup> los folículos primarios se desarrollan a diario y casi cada hora. Sólo pocos llegan a convertirse en folículos de

Graaf y ovulan, la mayor parte de los folículos sufren atresia.<sup>8, 14</sup> En este estado, el animal está expuesto a un incremento progresivo en los niveles de estrógenos secretados por los folículos en desarrollo. El tiempo promedio para que un folículo se desarrolle y llegue a la ovulación es de dos semanas, sin embargo, sólo hasta el día 14 del ciclo se sabe cuántos folículos ovularán.<sup>15</sup>

El estro es definido como el periodo de receptividad sexual, durante el cual ocurre la ovulación y el apareamiento, y el CL comienza a formarse, la duración del estro puede ser desde 24 hasta 36 horas y la ovulación ocurre al final del estro (25 a 36 horas de iniciado el estro). La ovulación es el proceso mediante el cual se rompe el folículo maduro y se libera el óvulo maduro. En la oveja la ovulación es espontánea, es decir que ocurre de igual forma tenga o no contacto con el macho.<sup>16</sup>

**Fase Lútea** (Metaestro y Diestro). Este es el periodo transitorio entre la ovulación y el desarrollo del CL. Después de la ovulación, el espacio total ocupado por el folículo, se transforma en un tejido completamente diferente con vascularización interna y funciones endocrinas.<sup>15, 17</sup> Conforme el folículo incrementa su tamaño, el antro se van llenando de líquido folicular, en este momento al folículo se le conoce como folículo de Graaf. Después de la ovulación el folículo de Graaf roto se llena por un coagulo de sangre constituyéndolo en lo que se conoce con el nombre de cuerpo hemorrágico.<sup>16</sup> Por la influencia en la oleada de LH, las células de la granulosa, en la pared del folículo roto, proliferan y se transforman en células luteínicas y este tejido se infiltra por capilares y subsiguientemente las células llenan el antro del folículo, a esta nueva estructura formada se le llama cuerpo lúteo (CL).<sup>15, 16, 17</sup>

El CL es un órgano endocrino temporal, el cual funciona por pocos días en las ovejas cíclicas no gestantes. Durante el diestro, el CL produce los niveles máximos de progesterona, si en el día 12 del diestro, no se encuentra un embrión viable dentro del útero de la oveja, el cuerpo lúteo sufre una luteólisis y regresión.<sup>14, 15</sup>

Durante la luteólisis, se presenta una disminución en la actividad lútea sin que exista daño celular, hay disminución en la capacidad del CL para producir progesterona, por lo que se presenta una disminución drástica en los niveles en los niveles de dicha hormona en el suero. Para que se produzca la lisis del CL es necesario el establecimiento de un patrón de secreción pulsátil de la prostaglandina  $F_{2\alpha}$  por parte del útero, aún cuando los mecanismos que regulan la secreción y síntesis de la prostaglandina  $F_{2\alpha}$  no están bien establecidos, se sabe que las hormonas esteroideas ováricas (estradiol y progesterona) y la oxitocina, tanto de origen

lúteo como hipofisiario, juegan un papel importante en la generación de estos pulsos.<sup>18, 19</sup>

Para que se secrete la prostaglandina  $F_{2\alpha}$  uterina, se requiere la presencia de estrógenos actuando sobre el útero previamente sensibilizado con progesterona. Hacia el final de la fase lútea, cuando los niveles de progesterona disminuyen, aparecen receptores para el  $17\beta$  estradiol, el cual estimula la síntesis de receptores para oxitocina en el endometrio; estos estrógenos provienen de los folículos ováricos en desarrollo.<sup>20, 21</sup> Como consecuencia del acoplamiento de la oxitocina con sus receptores se desencadena la síntesis de prostaglandina  $F_{2\alpha}$  por el útero y entonces la secreción de progesterona por el CL empieza a declinar hasta que se presenta la luteólisis,<sup>18, 20, 21</sup> repitiéndose los eventos fisiológicos para llevar a cabo un nuevo ciclo estral.<sup>22</sup>

Se ha determinado que existen ovejas con ciclos estrales ligeramente más cortos de lo normal (14 o 15 días), en las cuales la secreción pulsátil de prostaglandina  $F_{2\alpha}$  y la destrucción del CL también ocurre uno o dos días antes de lo normal<sup>18</sup> ya que dichas ovejas con ciclos de duración de 15 días iniciarán la luteólisis en el día 13, cuando el embrión aún no ha sido capaz de dar señal de su presencia.<sup>4, 18</sup>

### 3.2 Reconocimiento de la gestación

La implantación de los embriones en la pared interna del útero es una fase básica en la reproducción de los mamíferos. Este es el resultado de una compleja serie de eventos y pasos que se llevan a cabo entre la fijación del blastocito en el útero y que finaliza con la formación definitiva de la placenta.<sup>23</sup>

El reconocimiento materno de la gestación es el intercambio de señales que establecen el útero materno y el embrión, que permite alargar la vida del cuerpo lúteo, previniendo el retorno a la ciclicidad ovárica.<sup>24, 25</sup>

Sin embargo los signos naturales y el cómo permanece esta señal es aún una controversia y se menciona que existen dos problemas a los que se enfrenta esta situación. Primero, la respuesta natural del útero durante la fase de aposición de la implantación, implica algunos cambios sistémicos asociados con el reconocimiento materno de la gestación, como es el mantenimiento del cuerpo lúteo y la modulación de la respuesta inmune e indican que algunos de estos signos son efectivos por largo tiempo. Parece probable que en muchos casos, éstos son más que un signo

embrionario. Segundo, los signos embrionarios propuestos en una o dos especies, siempre pueden tener un modo de acción diferente. Por ejemplo, en la mujer y en los primates no humanos, es la producción de gonadotropina coriónica, la responsable del rescate del cuerpo lúteo y queda la controversia acerca de si es en verdad que el signo embrionario es sintetizado por el blastocito preimplantado, es claro que actúa como un factor luteotrópico. En contraste, en animales domésticos como la oveja, la cerda y la vaca, es la producción de una antiluteolisina por parte del embrión la que esencialmente neutraliza la función de la prostaglandina  $F_2\alpha$  y de esta manera se previene la destrucción del cuerpo lúteo.<sup>24</sup>

Existen una serie de señales iniciales que se establecen entre el embrión y el útero entre las que se encuentran el factor temprano de la gestación (EPF), el cual se ha detectado entre 6 a 24 horas después de la inseminación o monta y es una glicoproteína inmunosupresora específica de la preñez y su producción es inducida por el factor activador de plaquetas (PAF).<sup>26</sup>

Sin embargo; el reconocimiento materno de la gestación en la oveja ocurre alrededor de los días 12 a 13 del ciclo estral,<sup>27, 28</sup> días en los que en ovejas no gestantes, ocurre la destrucción del cuerpo lúteo mediante la secreción pulsátil de prostaglandina  $F_2\alpha$ .<sup>29, 30</sup>

Los eventos que permiten el reconocimiento de la gestación tienen una relación cronológica muy precisa, ya que el útero de la oveja está programado para establecer alrededor del día 14 ó 15 del ciclo estral un patrón de secreción pulsátil y luteolítico de prostaglandina  $F_2\alpha$  que origina que los niveles de progesterona de la oveja no gestante disminuyan rápidamente a menos de 0.2 ng/ml.<sup>31</sup> La producción de prostaglandina  $F_2\alpha$  se incrementa tanto en ovejas gestantes como en las no gestantes, hasta alcanzar un pico alrededor del día 14 o 15, para posteriormente decrecer.<sup>30, 32</sup> En cambio, para que la gestación temprana pueda mantenerse, es indispensable que el aporte de progesterona por parte del CL no se interrumpa.<sup>19</sup> En la oveja, se requiere la secreción de sustancias embrionarias para que ocurra el reconocimiento materno de la gestación y el CL se mantenga más allá del día 14 postovulación, mediante tres mecanismos principales: la atenuación de la liberación pulsátil de la prostaglandina  $F_2\alpha$  por el útero, la reducción de la actividad luteolítica de la prostaglandina  $F_2\alpha$  sobre el CL y el incremento de la secreción de prostaglandina  $E_2$  por parte del útero gestante.<sup>33, 34, 35</sup> A su vez, para que el CL se mantenga más allá del día 14 postovulación es necesaria la secreción de sustancias embrionarias, que originan el reconocimiento materno de la gestación y evitan la luteólisis.<sup>1</sup>



Como un mecanismo adicional para lograr el reconocimiento materno de la gestación, algunos investigadores indican que la prostaglandina  $E_2$  que es producida por el útero gestante inhibe la acción de la prostaglandina  $F_{2\alpha}$  sobre el cuerpo lúteo, ya que la administración de prostaglandina  $E_2$  alarga la vida del CL en ovejas, vacas y primates.<sup>33, 34, 36, 37</sup> Aunque no se conoce el mecanismo de acción de las sustancias lúteo protectoras durante el reconocimiento materno de la gestación, se sabe que no es mediante la reducción del número de receptores a la prostaglandina  $F_{2\alpha}$  o por el aumento de los receptores de la prostaglandina  $E_2$  lo que en consecuencia inhibe el crecimiento folicular y retrasa la ovulación.<sup>35, 38, 39, 40</sup>

Recientemente se ha aislado e identificado el factor antiluteolítico secretado por el embrión, el cual es una proteína trofoblástica.<sup>24, 28, 41, 42, 43, 44</sup> denominada anteriormente proteína trofoblástica ovina y actualmente interferón-tau ovino (oIFN- $\tau$ ).<sup>4, 5, 45</sup> El oIFN- $\tau$  es el producto de secreción del embrión más abundante entre los días 12 a 21 de la gestación,<sup>5, 6, 46</sup> aunque ya los embriones de 8 días de edad producen oIFN- $\tau$  en cantidades apreciables.<sup>5, 6</sup> El oIFN- $\tau$  es producido por el epitelio del trofoblasto (trofoectodermo) y absorbido por las células epiteliales de la superficie del lumen uterino, las células carunculares e intercarunculares y por el epitelio de las glándulas uterinas superiores.<sup>43, 47, 48, 49, 50</sup> Aparentemente el oIFN- $\tau$  no es secretado al torrente sanguíneo materno y sus receptores se encuentran en el endometrio uterino, lo que sugiere una acción local.<sup>42, 49</sup>

La función principal del oIFN- $\tau$  es la de evitar el establecimiento del patrón de secreción pulsátil luteolítico de la Prostaglandina  $F_{2\alpha}$  mediante el bloqueo directo de la síntesis de receptores para oxitocina dependientes de estrógenos, o mediante la inhibición de la expresión de estos receptores de su reciclamiento, ya que en apariencia no afecta las concentraciones de los receptores a oxitocina ya sintetizados, ni compete con la oxitocina por los mismos receptores endometriales.<sup>42, 51, 52, 53, 54, 55</sup>

Además del oIFN- $\tau$ , se han aislado otras proteínas producidas por el embrión ovino cuya función es la de proteger al CL bloqueando la acción de la prostaglandina  $F_{2\alpha}$  (lúteo protectoras), sin embargo, hasta el momento no han sido descritas detalladamente.<sup>35</sup>

Aunado a todos estos factores químicos, se ha sugerido además que el contacto físico entre el embrión y el endometrio produce una señal mecánica, considerada como otro signo para que se lleve a cabo la implantación en los animales, por lo que todos los factores propuestos pueden ser mutuamente incluyentes.<sup>23</sup>

### 3.3 Desarrollo embrionario

El óvulo fecundado de los mamíferos inicia su desarrollo, siendo una de las mayores células corporales y con una relación volumen citoplasmático / nuclear muy elevada. Tras la fertilización, el embrión sufre una mitosis.<sup>12, 56</sup>

El desarrollo embrionario continúa con el comienzo de la división celular. En los mamíferos tiene lugar cuando las células están aún envueltas por la zona pelúcida. La fase de una célula, debido a su tamaño relativamente grande, se distingue por su baja relación núcleo-citoplasma. Esta relación crítica para el control genético de la célula en fases posteriores, se restaura por medio de la segmentación a un valor que se asemeja al de las células adultas, presentándose muchas divisiones celulares sucesivas sin incremento de la masa total. El crecimiento puede ser "negativo" durante la segmentación, puesto que la cantidad total del material celular disminuye cerca del 40% en la oveja durante los tres primeros días después de la fertilización.<sup>12, 57</sup>

La segmentación es mucho más lenta en los mamíferos que en otros vertebrados inferiores o que en los invertebrados. El tiempo requerido después de la fusión del espermatozoide con el óvulo y la formación del 2do cuerpo polar es de 1 a 2 horas después de la fertilización en el ratón y de 2 a 5 horas en el hámster.<sup>23</sup>

Las variaciones en la tasa de segmentación son comunes tanto entre los embriones como entre las células de un mismo embrión y su resultado es la aparición de células más pequeñas llamadas blastómeros<sup>57</sup>. Durante las primeras divisiones por segmentación, inmediatamente después de cada mitosis encontramos síntesis de DNA en las dos células hijas, es decir la pausa que existe antes de la síntesis de DNA, característica de las células adultas, no existe.<sup>57</sup> El modo de división depende de la cantidad de vitelo que contiene el cigoto.<sup>56, 57</sup> Cada blastómero tiene prácticamente el mismo tamaño, que es la mitad de la célula original. Al contrario de lo que ocurre en la mitosis de las células somáticas, en las que las células hijas pasan por un periodo de crecimiento antes de dividirse de nuevo, ambos blastómeros del embrión bicelular se dividen de nuevo, dando lugar a un embrión de cuatro células cada una de las cuales tienen el tamaño de un cuarto de la célula primaria, lo cual sucede en la oveja a las 42 horas después del coito.<sup>56</sup> El primer resultado de la división es la formación de un acúmulo de células denominado mórula, los blastómeros de la mórula pierden su forma esférica y se adaptan estrechamente unos con otros; este estadio se conoce como compactación.<sup>2, 57</sup> Los cuatro blastómeros se dividen originando un embrión de ocho células, luego dieciséis (en la oveja 3 días después del coito) y así sucesivamente.<sup>12, 56</sup> Estas divisiones celulares no son absolutamente sincrónicas y de ahí que pueda observarse un número impar de blastómeros.<sup>12, 57</sup>

El siguiente evento morfológico en el desarrollo del mamífero es la formación de la cavidad blastocística o blastocele. Esta formación comienza con el transporte de fluidos por parte de las células del trofoectodermo, así como con la partición física de las células en un compartimiento interno (masa celular interna) y el epitelio externo (el trofoectodermo), el cual envuelve a las células internas y retiene el fluido del blastocele.<sup>23</sup>

La secreción de los blastómeros forma en el centro de la mórula una cavidad que aumenta de tamaño rápidamente hasta que el embrión parece una esfera hueca, el embrión en este estadio que comienza 6 a 7 días después de la fecundación en la oveja recibe el nombre de blastocito.<sup>2, 12, 17, 56, 58</sup> El blastocito tiene una sola capa periférica de células grandes y delgadas, la capa del trofoblasto, dentro de la cual está una masa de células más pequeñas, colocada a un lado de la cavidad central. Esta masa celular interna formará el organismo adulto, mientras que las células del trofoblasto serán las encargadas de la absorción de nutrientes durante las primeras fases del desarrollo y posteriormente formarán la placenta y las membranas embrionarias.<sup>2, 12, 17, 57</sup> Hasta esta fase los embriones de todos los mamíferos se parecen mucho entre sí. Sin embargo los blastocitos crecen de manera diferente, en el caso de las ovejas y las vacas el blastocito se alarga y puede alcanzar un largo de 20 cm antes de su fijación durante la segunda o tercera semana de la gestación.<sup>57</sup>

Durante este estadio la zona pelúcida se rompe en el día 7 y el embrión queda libre y también se produce un aumento en el tamaño total y un cambio en la forma debido principalmente al alargamiento del blastocito, en la oveja en el día 13 a 14.<sup>2, 57</sup>

La característica más importante del blastocito es su diferenciación en el trofoblasto y en la masa celular interna. Las células del trofoblasto parecen ser relativamente especializadas, son largas y aplanadas, contienen numerosas microvelocidades que forman la pared continua de trama muy cerrada del blastocito; esta pared está formada casi por las dos terceras partes de las células del blastocito.<sup>2, 12, 17, 57</sup> Funcionalmente el trofoblasto actúa primero como una bomba, ya que es el responsable de la transferencia activa del líquido hacia la cavidad del blastocito, y posteriormente el trofoblasto es el primero en hacer contacto con el tejido materno, digiere el epitelio uterino que se va desintegrando e invade las capas más profundas.<sup>57</sup> Por el contrario, la masa celular interna es una masa pequeña y redonda de células que se dividen rápidamente; muestran muy poca adhesión entre sí y son muy poco especializadas hasta después de la implantación.<sup>12, 55, 57</sup>

En una fase posterior, el endodermo se diferencia para formar una capa de células que limita las superficies internas del trofoblasto y la masa celular interna. Se

cree que en las ovejas las células del endodermo provienen de la migración o separación de una capa proveniente de la masa celular interna.<sup>12, 17, 57</sup>

Después de su fertilización en la región ampular del oviducto, la tasa de transporte por el oviducto no es uniforme, es esencial para la supervivencia del embrión que el transporte no sea muy rápido.<sup>12, 17, 57</sup> Durante el celo, el útero distendido proporciona un medio favorable para los espermatozoides, pero es totalmente inadecuado para los óvulos y no es sino hasta un día después, por lo menos, cuando el medio ambiente uterino se vuelve tolerable para el embrión.<sup>55</sup>

Una vez que los embriones han penetrado en el útero se necesita un periodo de por lo menos un día, antes de que empiece la implantación.<sup>54, 59</sup> El blastocito de la oveja se implanta en la pared del útero por medio del contacto de superficies, esto ocurre alrededor del décimo día mientras se encuentra en forma esférica, se dice que el embrión se implanta cuando se fija en una posición y establece contacto físico con el organismo materno.<sup>55</sup> El trofoblasto es el tejido especializado para su interacción con el útero. Durante el curso de la implantación se desarrollan células gigantes trofoblásticas de carácter altamente invasor.<sup>55, 59</sup> En una fase posterior se rompen muchos de los límites celulares para formar el sincitio trofoblástico, que contiene muchos núcleos en una sola masa citoplasmática. En la oveja el embrioblasto permanece en el útero y el trofoblasto hace estrecho contacto con el epitelio uterino formando una placenta epiteliochorial.<sup>55</sup>

### **3.4 Somatotropina**

La hormona del crecimiento (GH) o somatotropina es una hormona hipofisiaria anterior que influye indirectamente en la reproducción, estimula el crecimiento de los tejidos corporales e influye en el metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas<sup>15</sup>. La hormona del crecimiento es una cadena polipeptídica simple de 191 residuos aminoácidos, con un peso molecular de 22,000 daltons y subunidades unidas por disulfuro, producida por las células denominadas somatotropos de la hipófisis anterior y controlada por dos péptidos hipotalámicos antagonistas en sus funciones; la somatostatina, que actúa inhibiendo su secreción y el factor liberador de la somatotropina, que estimula su síntesis y secreción.<sup>15</sup> Se denomina también somatotropina porque afecta todas las células de la estructura o "soma",<sup>17</sup> es inicialmente sintetizada como un precursor proteico, con un péptido señal aminoterminal, que es removido durante su secreción.<sup>15</sup> Con base en la secuencia de sus aminoácidos, la somatotropina se ha agrupado como miembro de una familia de

proteínas homólogas que incluyen a la prolactina y a los lactógenos placentarios.<sup>57</sup> La somatotropina influye en el metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas, así como su transporte al interior de las células, promueve también una mayor retención de nitrógeno y fósforo y aumenta la movilización de las reservas de triglicéridos del tejido adiposo, además estimula la gluconeogénesis, aumentando el aporte de glucosa a la circulación,<sup>60,61</sup> contribuyendo además a la retención de sodio, potasio, magnesio y cloro.<sup>15, 62</sup>

Tiene efecto sobre el metabolismo de los carbohidratos y de los lípidos, dichos efectos influyen en un aumento de la gluconeogénesis hepática, con la consiguiente reducción de la síntesis de grasa por parte del tejido adiposo y la remoción de los depósitos corporales de grasa.<sup>62</sup> Otro de los efectos sobre el metabolismo de los lípidos, es que puede modificar las concentraciones circulantes de las proteínas de alta (HDL) y de baja densidad (LDL), dependiendo tanto de la especie como del tipo de dieta suministrada. En los rumiantes son la principal fuente plasmática de colesterol, precursor para la síntesis de esteroides por parte de las células lúteas, por lo que un aumento en sus concentraciones circulantes podría favorecer la mayor producción de progesterona.<sup>65</sup>

Actúa como promotora del crecimiento pero los complejos procesos metabólicos responsables del crecimiento no están completamente entendidos. Sin embargo, se ha establecido que posterior a su secreción la somatotropina actúa directamente uniéndose a los receptores en las células precursoras de huesos, músculos y células grasas, lo que resulta en su diferenciación y proliferación. También actúa indirectamente al estimular a los hepatocitos y otros tipos celulares para que secreten IGF-I, los cuales actúan en los tejidos periféricos promoviendo el crecimiento.<sup>63</sup>

La somatotropina se ha obtenido de especies como los roedores, bovinos, ovinos, caprinos, porcinos, humanos, equinos, peces y aves.<sup>64</sup>

La somatotropina bovina tiene una estructura cuaternaria y está formada por 4 hélices y tiene dos funciones, una a nivel somatogénico y otro a nivel lactogénico. Aún cuando existe especificidad de especie, se ha visto que las hormonas de algunas especies tienen actividad biológica en especies diferentes a la propia, como es el caso de la hormona bovina, que estimula el crecimiento en ratas y ovejas.<sup>61, 66</sup>

Comercialmente se produce gran cantidad de somatotropina bovina por medio de ingeniería genética, utilizando la expresión del gen de la somatotropina en la *Escherichia coli*, además de existir animales transgénicos que producen grandes cantidades de somatotropina.<sup>64</sup>

La somatotropina juega un papel importante en el mantenimiento de la sensibilidad de los folículos a las gonadotropinas, ya que la administración de gonadotropinas a ovejas hipofisectomizadas mantiene el desarrollo folicular sólo cuando se utiliza también somatotropina.<sup>65</sup>

En bovinos la aplicación de somatotropina favorece la función lútea e incrementa los niveles de progesterona, según la fase del ciclo estral en que se administre.<sup>66</sup> Se ha observado que la somatotropina bovina en ovejas superovuladas donadoras de embriones, estimula la función lútea y el desarrollo embrionario.<sup>67</sup> Tanto en ovinos como en bovinos, las concentraciones de progesterona se elevan cuando la somatotropina se administra al inicio del ciclo estral, y no cuando se administra a la mitad del ciclo, lo que podría sugerir que el efecto es mayor sobre la formación del cuerpo lúteo que sobre su función esteroideogénica.<sup>68</sup> Cuando la somatotropina se administra durante los primeros 9 días del ciclo estral, estimula el desarrollo del cuerpo lúteo y origina un mayor tamaño, así como una producción de más progesterona. Este efecto se observa también cuando la somatotropina se administra al día 16 y 21 del ciclo, pero no cuando se administra entre los días 10 a 15.<sup>69, 70</sup>

Los efectos de la somatotropina sobre el ovario son mediados principalmente por somatomedinas o factores de crecimiento, los cuales son proteínas de peso molecular menor a 30 mil daltons, que se producen por estimulación de la somatotropina y la insulina,<sup>66, 71</sup> ya que los folículos ováricos poseen un reducido número de receptores para la somatotropina. Además participa en el metabolismo embrionario estimulando la síntesis de proteínas del embrión, estimula el crecimiento y diferenciación de las células uterinas.<sup>66</sup>

Existen diferentes factores de crecimiento, como son el factor de crecimiento transformador (TGF), los factores de crecimiento parecidos a la insulina (IGF-I y II), el factor de crecimiento epidermal (EGF) y los factores de crecimiento de los fibroblastos (FGF), que intervienen en el desarrollo de los embriones antes de su implantación y posteriormente son mediadores de la decidualización e implantación embrionaria.<sup>72</sup>

De estos factores del crecimiento, el IGF-I es el mediador más importante que se produce en respuesta a la hormona del crecimiento o somatotropina,<sup>7, 73</sup> además de sus efectos sobre el desarrollo embrionario, tanto el IGF-I como el IGF-II pueden actuar a escala ovárica, oviductual y uterino, ya que existen receptores para los factores de crecimiento en estos tejidos.<sup>74, 75</sup> En estudios realizados sobre el desarrollo *in vitro* de embriones ovinos, se ha determinado que la adición de IGF-I y II incrementa de manera importante la secreción embrionaria de  $\text{olFN-}\tau$ , por lo que podría favorecer el reconocimiento de la gestación, iniciando o ampliando la comunicación entre el embrión y el útero gestante.<sup>76</sup> Además de sus efectos sobre el desarrollo embrionario,

tanto el IGF-I como el IGF-II pueden actuar a nivel ovárico, oviductual y uterino, ya que existen receptores para los factores de crecimiento en estos tejidos.<sup>77</sup> En las células oviductuales de la borrega se han encontrado receptores para IGF-II durante todas las fases del ciclo estral y se han encontrado altos niveles de RNAm para IGF-I en los ovarios de fetos como de ovejas adultas, sobre todo a nivel de células de la granulosa y teca de los folículos antrales, y también a nivel del cuerpo lúteo de ovejas adultas.<sup>75</sup>

Se ha encontrado que los niveles de IGF-II en las ovejas se encuentra más alto en el día 14 de gestación y que corresponde a la máxima síntesis y secreción de la proteína trofoblástica ovina-I (oTP), que es la hormona responsable del reconocimiento de la gestación.<sup>76</sup>

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 reproductor materno, ya que tanto el útero como los oviductos, ovarios, folículos ováricos y cuerpos lúteos, presentan receptores para los factores de crecimiento.<sup>73</sup>

## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Ovina (C.E.I.E.P.O.) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

El C.E.I.E.P.O. se encuentra ubicado en el Km 53.100 de la carretera federal México-Cuernavaca en el poblado de Tres Marías, Municipio de Huitzilac, Estado de Morelos, a 2810 metros sobre el nivel del mar, a 19° 02' de latitud norte y 99° 16' de longitud oeste. El clima es Cb' (m) (w) ig con lluvias en verano y que corresponde según la clasificación de Köpen al templado semifrío con verano fresco y largo, con una precipitación pluvial promedio de 1245 mm y temperatura media anual que oscila entre 12 y 18 °C.<sup>78</sup>

### 4.1 Animales

Las ovejas empleadas en el estudio que correspondían a las razas Suffolk y Rambouillet, se encontraban en pastoreo diurno y encierro nocturno en plena actividad reproductiva. El estudio se realizó en el mes de septiembre cuando las ovejas se encontraban ciclando normalmente y para confirmar esto se detectaron celos con un macho celador un mes antes de iniciar el trabajo. Se utilizaron un total de 45 hembras de entre 2 y 4 años de edad, que hubiesen parido.

### 4.2 Alimentación

El pastoreo se llevó a cabo de las 7:00 a las 17:00 hr en praderas implantadas con Ryegrass, trébol blanco, trébol rojo y grama nativa, una vez que las ovejas regresaban del pastoreo se les recibía en el pesebre con 200 gr de un complemento elaborado con base en sorgo, soya, melaza, sales minerales y heno de avena y el agua se proporcionó *ad libitum*.



### 4.3 Sincronización del ciclo estral y superovulación

Para la sincronización del ciclo estral de las ovejas, se colocaron durante 9 días esponjas intravaginales que contienen 40 mg de Acetato de fluorogestona (FGA)\* y 2 días antes del retiro de las esponjas se aplicaron 7 mg de Dinoprost trometamina\*\* en 25 receptoras.

Las hembras donadoras de embriones fueron superovuladas con 250 UI de FSH porcino\*\*\* en dosis decreciente, mediante el siguiente esquema: dos días antes de retirar la esponja, se administraron 62.5 UI por vía intramuscular en la mañana y 50 UI en la tarde, al día siguiente 50 UI en la mañana y 37.5 UI en la tarde, y el día del retiro de la esponja se administraron 25 UI en la mañana y 25 UI en la tarde.<sup>77</sup> Un día después del retiro de las esponjas vaginales, se detectaron celos dos veces al día, a las 7:00 y a las 15:00 horas, utilizando un macho cubierto con un mandil, para evitar la monta con intromisión del pene. A las hembras donadoras que presentaron celo se les dio monta natural utilizando un semental previamente seleccionado y evaluado en cuanto a su capacidad reproductiva, la monta se realizó cada ocho horas mientras las hembras permanecieron receptivas.

### 4.4 Grupos experimentales

Al iniciarse el estro (día 0 del ciclo estral), las donadoras se asignaron al azar a uno de los siguientes grupos:

**GRUPO TRATADO:** 10 ovejas de la raza Suffolk tratadas con 100 mg (0.28 ml) de somatotropina bovina en una sola aplicación intramuscular a las 36 horas de detectarse por primera vez el estro.<sup>67</sup>

**GRUPO TESTIGO:** 10 ovejas de la raza Suffolk a las que se les administraron 0.28 ml de solución salina fisiológica.

\*Chronogest ® Intervet México.

\*\* Lutalyse ® Upjohn, S.A. de C.V.

\*\*\* Pluset ® Serono de México.

#### 4.5 Recolección y evaluación de embriones

La recolección de los embriones se realizó por laparotomía medio ventral en el día 6 postservicio. Para ello se sometió a las ovejas a anestesia general: la tranquilización se hizo con Xilacina\* al 2% a razón de 0.11 mg por kilogramo de peso vivo por vía intramuscular y como anestésico se utilizó Ketamina\*\*, 2 mg por kilogramo de peso vivo por vía endovenosa. Se rasuró, lavó y desinfectó la región abdominal, para posteriormente realizar una incisión de 5 cm de largo aproximadamente 4 cm anterior a la ubre, sobre la línea media. Se procedió a exteriorizar el útero y se observaron los ovarios para evaluar la respuesta de superovulación. Posteriormente, se lavó cada uno de los cuernos utilizando una sonda de Foley de calibre 10 fr, que se introdujo en la base del cuerno, mediante una punción con un catéter de uso intravenoso de 14 G x 5½, para recuperar el medio de lavado (60 ml de solución de Dulbecco modificada a la que se le agregó 4% de albúmina sérica bovina y 100 UI/ml de penicilina G sódica), que se introdujo por medio de otro catéter de uso intravenoso de 18 G x 1¼, insertado en la punta del cuerno. El medio se colectó en un filtro concentrador. Una vez colectados los embriones, el útero se regresó a la cavidad abdominal y se suturó la incisión.<sup>79</sup>

Los embriones colectados se evaluaron morfológicamente en un microscopio estereoscópico y se clasificaron de acuerdo a la calidad y grado de desarrollo. Se consideraron como embriones transferibles a las mórulas y blastocitos clasificados morfológicamente como Calidad 1 o excelentes: embriones compactos y esféricos, simétricos y con células de tamaño, color y textura uniformes, sin gránulos en el citoplasma, con pocas vesículas pequeñas, el espacio perivitelino vacío. Calidad 2 o buenos: ligera asimetría, pocos blastómeros extruidos y ligero retardo en su desarrollo, con imperfecciones menores en estas características. Los embriones calidad 3 o regulares o pobres: 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 y, embriones calidad 4 o degenerado: zona pelúcida rota, blastocele no visible, grandes zonas de degeneración, poca cantidad de células, blastómeros sueltos de diferentes tamaños. Los embriones calidad 3 y 4 se conside-

\* Rompun® Bayer de México, S.A. de C.V.

\*\* Imalgen 1000® Rhône Mérieux, S.A. de C.V.

raron como no transferibles.<sup>80</sup> Así mismo, el desarrollo de los embriones se calificó en 9 categorías, a cada una de ellas se le asignó una escala numérica, correspondiendo el 1 al de menor desarrollo y el 9 al de máximo desarrollo:

- 1= ovocito.
- 2= 2 a 12 células.
- 3= mórula temprana.
- 4= mórula.
- 5= blastocito temprano.
- 6= blastocito.
- 7= blastocito expandido.
- 8= blastocito maduro.
- 9= Blastocito maduro expandido.<sup>81</sup>

#### **4.6 Evaluación de la función del cuerpo lúteo**

Para evaluar el efecto del tratamiento sobre la función del cuerpo lúteo se determinó el número y calidad de los cuerpos lúteos presentes al momento de la colección de los embriones en: Normal (bien definidos, de color rojo brillante y con una buena irrigación) o en Regresión (pequeños, de color blanco o rosa pálido y sin irrigación marcada).<sup>82, 83, 84</sup> A los dos grupos de hembras donadoras (tratado y testigo), a partir del día 1 postservicio y hasta el día 6 en que se colectaron los embriones, se obtuvieron muestras de sangre diarias para la determinación de las concentraciones plasmáticas de progesterona.

#### **4.7 Transferencia de embriones**

Los embriones que se obtuvieron se transfirieron laparoscópicamente a hembras de la raza Rambouillet que sirvieron como receptoras, que al momento de la transferencia tuvieran un cuerpo lúteo bien desarrollado<sup>79</sup> y que presentaron estro no más de 12 horas antes o después que su donadora. Las ovejas se tranquilizaron con Xilazina\* intramuscular al 2% (10 mg/50 Kg de peso vivo), para la anaestesia se utilizó Ketamina\*\* (2 mg/Kg de peso vivo) por vía endovenosa. Se hicieron dos incisiones en

la pared abdominal, aproximadamente a 4 cm de la línea media y 3 cm anteriores a la ubre, por donde se insertó un trocar con cánula y el laparoscopio. Se insufló aire en la cavidad por medio de una aguja de Verres, para permitir la localización del útero y los ovarios, se localizó el ovario con el cuerpo lúteo más desarrollado. Por una segunda cánula se introdujeron unas pinzas de Babcock con las que se retrajo y exteriorizó el cuerpo ipsilateral a dicho cuerpo lúteo. En el cuerno uterino seleccionado se hizo una punción con un catéter intravenoso (18Gx1¼) y se transfirieron los embriones por medio de una jeringa insulínica conectada con una punta para pipeta. Cada receptora recibió dos embriones provenientes de la misma donadora. Finalmente el cuerno se regresó a la cavidad abdominal y se suturaron las incisiones.

#### 4.8 Análisis estadístico

Para analizar las concentraciones de progesterona se utilizó el procedimiento de modelos lineales generales del paquete estadístico SAS <sup>85</sup>, en donde se consideró como variables independientes al tratamiento, al día del ciclo y al efecto del animal anidado dentro del tratamiento.

Para comparar el promedio de ovocitos, mórulas, blastocitos, estructuras totales (mórulas + blastocitos), cuerpos lúteos normales, cuerpos lúteos en regresión y cuerpos lúteos totales dentro de cada grupo, se utilizaron pruebas de T. <sup>86,87</sup>

Para comparar los porcentajes de fertilidad, prolificidad y embriones transferibles y no transferibles entre los grupos, se realizaron pruebas de Chi cuadrada. <sup>86,87</sup>

\* Rompun® Bayer de México, S.A. de C.V.

\*\* Imalgen 1000® Rhône Mérieux, S.A. de C.V.

**Falta página**

**N° 21**

## 6 RESULTADOS

### 6.1 Efecto de tratamiento en las variables estudiadas

En el Cuadro 1 se puede observar el total de los cuerpos lúteos obtenidos en el grupo testigo y el grupo tratado, observándose que en el grupo testigo se obtuvieron 103 cuerpos lúteos totales y en el grupo tratado, 108 cuerpos lúteos totales. En el grupo testigo se observaron un total de 75 cuerpos lúteos normales, a diferencia del grupo tratado, en el cual se obtuvieron 62 cuerpos lúteos normales. El total de cuerpos lúteos en regresión en el grupo testigo fue de 28 y de 47 en el grupo tratado.

**Cuadro 1 Número de cuerpos lúteos encontrados por grupo.**

GRUPO	N	CL	CL	CL
		Totales	normales	regresión
TESTIGO	9	103	75	28
TRATADO	8	108	62	47

En el efecto del tratamiento sobre el número de cuerpos lúteos totales que se encontró en el grupo testigo y el tratado ( $11.11 \pm 1.02$  vs.  $13.63 \pm 1.67$ ), cuerpos lúteos normales ( $10.11 \pm 0.89$  vs.  $12.75 \pm 1.21$ ) y cuerpos lúteos en regresión ( $1.0 \pm 0.50$  vs.  $0.88 \pm 0.88$ ) y estructuras totales ( $7.11 \pm 1.68$  vs.  $7.88 \pm 1.51$ ) al llevar a cabo el análisis estadístico no se encontró diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) (Cuadro 2).

**Cuadro 2 Efecto de la somatotropina bovina sobre los cuerpos lúteos.**

GRUPO	N	CL Totales	CL normales	CL regresión	Estructuras totales
TESTIGO	9	11.11 ± 1.02 <sup>a</sup>	10.11 ± 0.89 <sup>a</sup>	1.0 ± 0.50 <sup>a</sup>	7.11 ± 1.68 <sup>a</sup>
TRATADO	8	13.63 ± 1.67 <sup>a</sup>	12.75 ± 1.21 <sup>a</sup>	0.88 ± 0.88 <sup>a</sup>	7.88 ± 1.51 <sup>a</sup>

No existió diferencia significativa entre el grupo tratado y el grupo testigo (P>0.05).

Con respecto al número de embriones y el estadio y calidad, se encontró que en el grupo testigo se obtuvo un total de 40 mórulas de calidad I, con 10 blastocitos calidad I y 14 ovocitos. En el grupo tratado se obtuvo un total de 27 mórulas de calidad I, 5 mórulas de calidad III, 18 blastocitos calidad I y 13 ovocitos, así mismo se encontró que las estructuras totales del grupo testigo fueron 64 y del grupo tratado se encontraron 63 estructuras totales (Cuadro 3).

**Cuadro 3 Embriones transferibles, no transferibles y ovocitos por grupo.**

GRUPO	N	Embriones transferibles	Embriones No transferibles	Ovocitos	Estructuras totales
TESTIGO	9	50	-	14	64
TRATADO	8	45	5	13	63

En el Cuadro 4 se muestran los resultados obtenidos durante el análisis estadístico realizado, encontrándose para los ovocitos 1.56 ± 1.43 vs. 1.63 ± 0.92, para las mórulas 4.44 ± 1.14 vs. 4.0 ± 1.40, para los blastocitos 1.11 ± 0.89 vs. 2.25 ± 1.75 y para las estructuras totales 7.11 ± 1.68 vs. 7.88 ± 1.51, no encontrándose diferencia significativa para ninguno de los dos grupos (P>0.05).

**Cuadro 4 Efecto de la somatotropina bovina sobre los ovocitos no fertilizados, embriones y estructuras totales.**

GRUPO	N	Ovocitos	Mórulas	Blastocitos	Estructuras totales
TESTIGO	9	1.56 ± 1.43 <sup>a</sup>	4.44 ± 1.14 <sup>a</sup>	1.11 ± 0.89 <sup>a</sup>	7.11 ± 1.68 <sup>a</sup>
TRATADO	8	1.63 ± 0.92 <sup>a</sup>	4.0 ± 1.40 <sup>a</sup>	2.25 ± 1.75 <sup>a</sup>	7.88 ± 1.51 <sup>a</sup>

No existió diferencia significativa entre el grupo tratado y el grupo testigo (P>0.05).



## 6.2 Efecto de la somatotropina en los niveles plasmáticos de progesterona

En el Cuadro 5 se pueden observar las concentraciones promedio de la progesterona plasmática (ng/ml) encontradas entre los días 1 al 6 postservicio en las ovejas testigo y en las tratadas.

Las concentraciones de progesterona en los dos grupos no fueron significativamente diferentes ( $P > 0.05$ ).

**Cuadro 5 Valores promedio ( $\pm$  E.E.) de Progesterona (ng/ml) en el grupo testigo y el grupo tratado.**

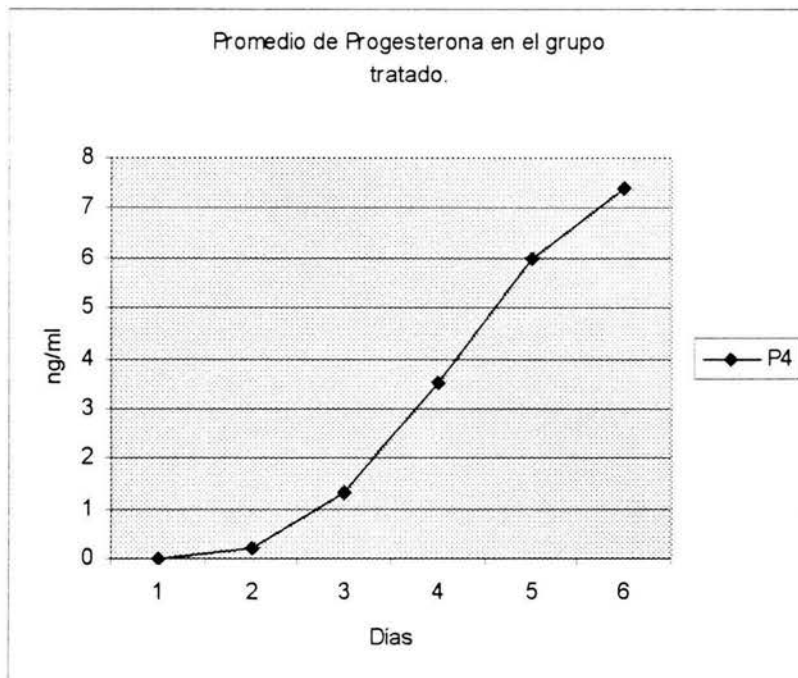
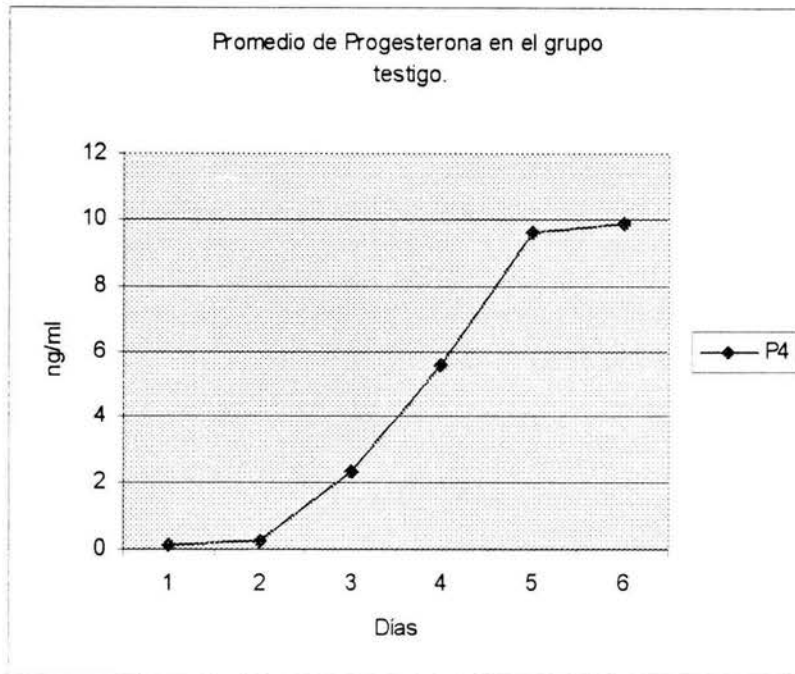
DÍA POSTSERVICIO	GRUPO TESTIGO	GRUPO TRATADO
1	0.14 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	0.00 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>
2	0.26 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	0.23 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>
3	2.33 $\pm$ 0.62 <sup>a</sup>	1.33 $\pm$ 0.35 <sup>a</sup>
4	5.56 $\pm$ 1.40 <sup>a</sup>	3.50 $\pm$ 0.78 <sup>a</sup>
5	9.57 $\pm$ 2.04 <sup>a</sup>	5.97 $\pm$ 1.37 <sup>a</sup>
6	9.86 $\pm$ 2.00 <sup>a</sup>	7.40 $\pm$ 0.87 <sup>a</sup>

No existió diferencia significativa entre el grupo tratado y el grupo testigo ( $P > 0.05$ ).

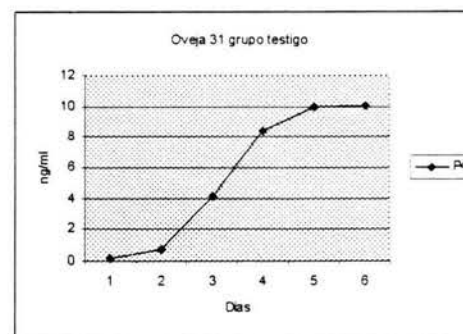
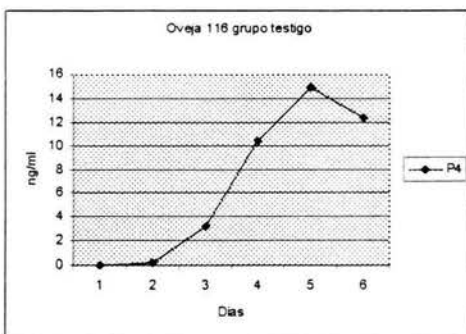
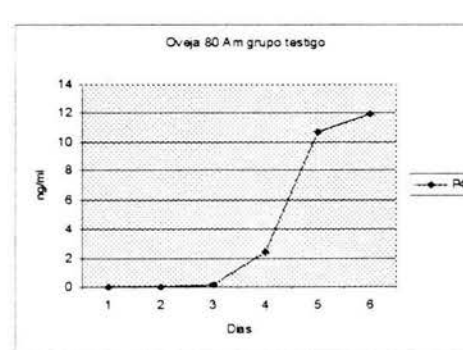
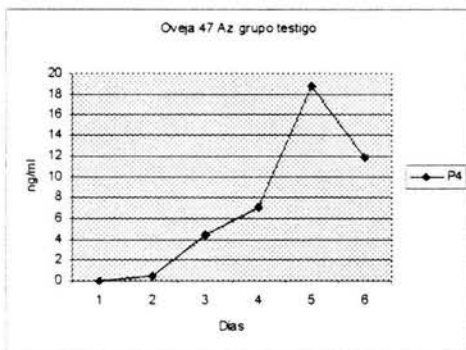
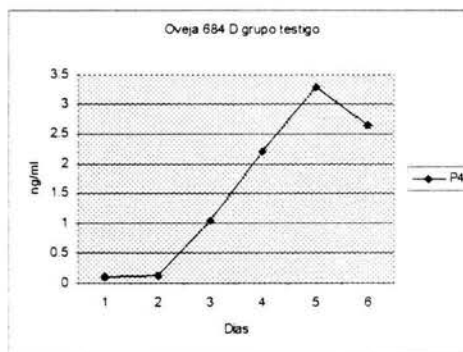
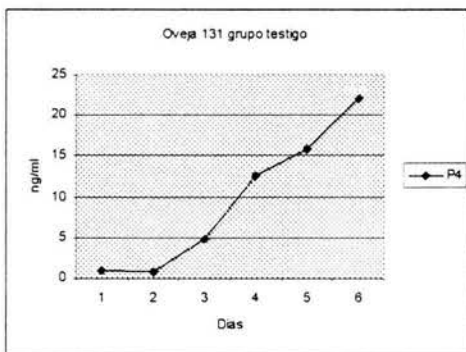
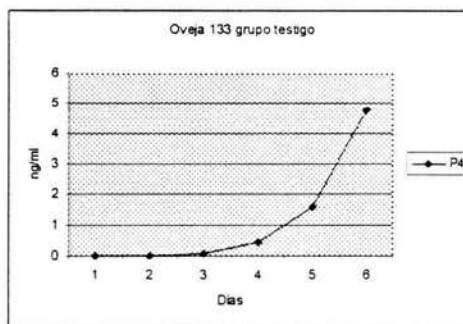
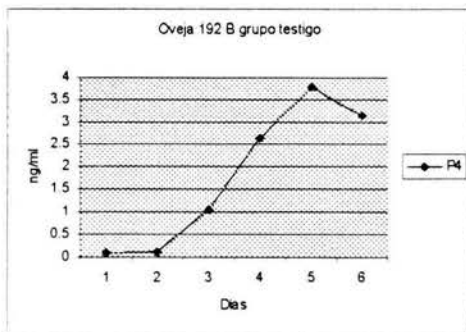
La producción de progesterona en ambos grupos indica la presencia de varios cuerpos lúteos, es importante hacer notar que las ovejas del grupo testigo, en forma general, presentan niveles mayores de progesterona en comparación con el grupo tratado (figura 1). En el grupo testigo sólo 3 ovejas (192 B, 133 y 684 D) fueron las que presentaron niveles menores a 5 ng/ml y un total de 8 ovejas presentaron niveles de progesterona de 10 ng/ml (31) o mayores a estos (131, 47 Az, 80 Am, 116) Fig 2.

En el grupo tratado se observaron niveles mayores a 10 ng/ml en sólo 2 ovejas (2 Am y 113) y un total de 8 ovejas presentaron niveles menores a 10 ng/ml (93 Am, 32 Az, 347 D, 25, 14 y 41) Fig 3.

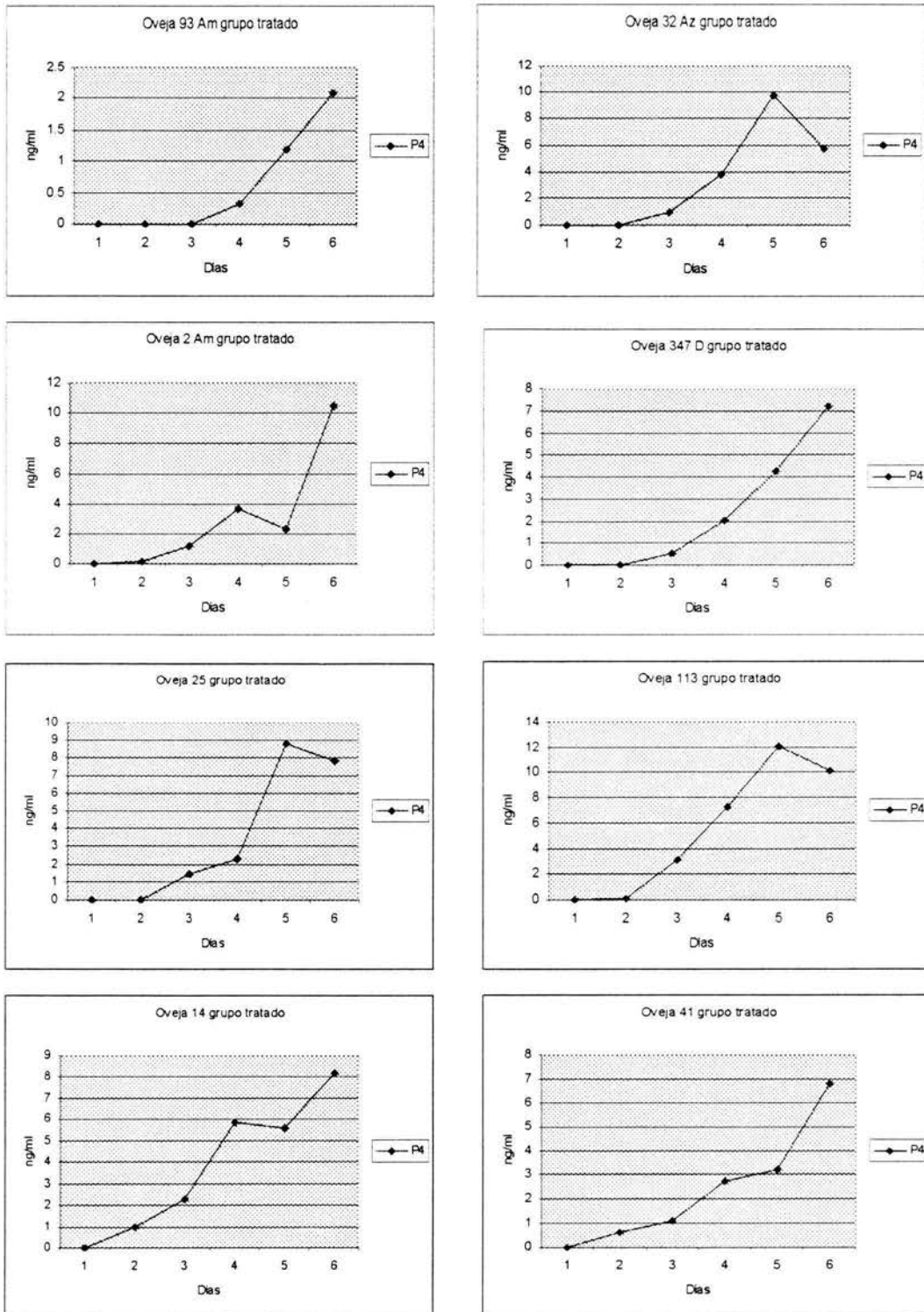
**Figura 1. Concentración promedio de progesterona durante los días de muestreo en las ovejas del grupo testigo y tratado.**



**Figura 2. Concentración de progesterona durante los días de muestreo en las ovejas del grupo testigo.**



**Figura 3. Concentración de progesterona durante los días de muestreo en las ovejas del grupo tratado.**



### 6.3 Viabilidad de los embriones

La viabilidad de los embriones se evaluó tomando en cuenta el porcentaje de gestación obtenido en las ovejas receptoras, dicha evaluación se realizó mediante el porcentaje de partos y se encontró en el grupo testigo que 5 ovejas de un total de 11 hembras receptoras, quedaron gestantes, lo que corresponde al 45.45 % de parto y en el grupo tratado, 10 hembras de un total de 14 receptoras, quedaron gestantes, lo que corresponde a un 71.42 % de fertilidad, existiendo una diferencia significativa (Cuadro 6).

Así mismo se evaluó la prolificidad obtenida por las hembras receptoras que recibieron embriones de las donadoras testigo y las tratadas con somatotropina bovina, obteniéndose en el grupo testigo una prolificidad de 180% y el grupo tratado 160%, encontrándose una diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) entre ambos grupos (Cuadro 7).

**Cuadro 6 Fertilidad de las receptoras de embriones obtenidos de donadoras tratadas con somatotropina bovina y testigo.**

GRUPO	Nº hembras transferidas	Nº hembras paridas	Porcentaje de fertilidad
TESTIGO	11	5	45.45 <sup>a</sup>
TRATADO	14	10	71.42 <sup>b</sup>
TOTAL	25	15	

<sup>a, b</sup> Diferente literal indica diferencia significativa entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ).

**Cuadro 7 Prolificidad de las receptoras de embriones tratadas con somatotropina bovina y no tratadas.**

<b>GRUPO</b>	<b>N° hembras paridas</b>	<b>N° corderos nacidos</b>	<b>Porcentaje de prolificidad</b>
TESTIGO	5	9	180 <sup>a</sup>
TRATADO	10	16	160 <sup>b</sup>
TOTAL	15	25	

<sup>a,b</sup> Diferente literal indica diferencia significativa entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ).

## 7 DISCUSIÓN

### 7.1 Efecto de la Somatotropina en los cuerpos lúteos

Existen diferentes informes de que la somatotropina estimula el crecimiento en el tamaño de los cuerpos lúteos, posiblemente por la estimulación a transformarse las células lúteas pequeñas en células lúteas grandes que tienen receptores para la somatotropina, esto durante el tiempo de desarrollo del cuerpo lúteo.<sup>64, 65, 66, 95</sup>

En este trabajo el tratamiento con la somatotropina no tuvo efecto alguno sobre el número de los cuerpos lúteos totales de las borregas tratadas ( $13.63 \pm 1.67$ ), contrario a lo encontrado por Rosas *et al*, 1995<sup>64</sup>, quienes observan un efecto positivo hacia el número de cuerpos lúteos normales en el grupo tratado. Así mismo, encontraron un efecto al utilizar la lactotropina, observando una mayor viabilidad funcional de los cuerpos lúteos en el grupo tratado y también notan que dicha hormona evita la presentación de cuerpos lúteos con regresión prematura (Rosas *et al*, 1995)<sup>64</sup>.

Algunos otros autores (Herrler, *et al*, 1994; Driancourt, *et al*, 1997; Folch, *et al*, 2001)<sup>87, 96, 98</sup> no encontraron diferencia significativa en el número y clasificación de los cuerpos lúteos encontrados en vacas o en cabras tratadas con somatotropina bovina, aún cuando han encontrado que ésta eleva en forma considerable los niveles de factores de crecimiento, principalmente el IGF-I (Simmen, 1993; Herrler, 1994; Wathes, 1995)<sup>75, 87, 89</sup> sintetizado por el folículo y que puede tener un efecto directo o indirecto en el ovario. En vacas se ha observado un incremento en el número de folículos, así como un aumento en el diámetro de los folículos subordinados<sup>97</sup>. Así mismo, otros autores (Ekery, *et al*, 1994)<sup>82</sup> han encontrado en ovejas que la secreción de estos factores de crecimiento (IGF-I) varían con las fases del ciclo estral y encontraron que la mayor producción de éste se da durante la fase folicular.

Estudios recientes (Stanko *et al*, 1994; Tanneta *et al*, 1995; Gong *et al*, 1997)<sup>90, 91, 92</sup> han demostrado que los tratamientos con somatotropina pueden mejorar el desarrollo de los folículos antrales en el ganado. Sin embargo se ha encontrado que los tratamientos con somatotropina incrementan significativamente los factores de crecimiento I (IGF-I) y la insulina, el mecanismo por el cual se da este incremento, no está bien definido, pero se sabe que los factores de crecimiento solos o combinados con la gonadotropina tienen un efecto profundo en la proliferación y en la esteroidogénesis de las células de la granulosa (Gong *et al*, 1997)<sup>92</sup>.

Gong *et al*, 1997<sup>92</sup>, encontraron que el incremento en el número de los folículos fue observado sólo en animales con incremento en las concentraciones de los IGF-I e insulina; pero no en vacas con únicamente incremento en las concentraciones de la somatotropina. Además el número de folículos pequeños fue positivamente correlacionado con las concentraciones de IGF-I e insulina, pero no con las concentraciones de somatotropina. En el mismo estudio, Gong *et al*, 1997<sup>92</sup>, confirmaron que la somatotropina no afecta la secreción de LH y FSH. De lo anterior se desprende que la somatotropina bovina estimula el desarrollo folicular por mecanismos indirectos que modulan la acción de las gonadotropinas en las células foliculares.

Gong *et al*, 1997<sup>92</sup> encontraron que el incremento en el número de folículos observados se debió a altas concentraciones de IGF-I e insulina, pero no estaban directamente relacionados con concentraciones elevadas de somatotropina.

Ellos concluyen que la somatotropina no afecta directamente la presencia o ausencia de cuerpos lúteos, el número o tamaño de los folículos y menciona que los factores de crecimiento IGF-I, son los que en realidad afectan a estas estructuras.

Lucy *et al*, 1999<sup>99</sup> encontraron que en bovinos y en ovinos las células de la granulosa no formaron IGF *in vitro*, y que la respuesta a la hormona del crecimiento, no se notó en estos rumiantes como lo hizo en hembras no rumiantes donde sí encontraron respuesta.

Hasler *et al*, 2003<sup>100</sup> no encontraron respuesta significativa en el número y clasificación de los cuerpos lúteos en vacas lactando tratadas con somatotropina en un programa de superovulación, en donde esperaban una respuesta favorable para la formación de un mayor y mejor número de cuerpos lúteos.

## **7.2 Efecto de la Somatotropina sobre las estructuras recolectadas (ovocitos y embriones).**

Uno de los principales efectos endocrinos de la somatotropina bovina lo constituye el incremento del IGF-I tanto en circulación como en diferentes tejidos, entre los cuales se incluye al ovario y el útero (Gallo, 1991)<sup>69</sup>.

Herrler, *et al*, 1994<sup>87</sup>, mencionan que se sospecha que la somatotropina bovina puede tener un efecto sinérgico con la FSH y los factores de crecimiento en la síntesis de los folículos ováricos, que los factores de crecimiento regulan varias de las funciones de las células de la granulosa y que pueden favorecer la superovulación en bovinos.



Así mismo, Herrler, *et al*, 1994<sup>87</sup>, mencionan que el tratamiento con somatotropina bovina en vacas productoras de leche, no afecta el número de ovocitos liberados y que el número de embriones transferibles liberados fue similar en los dos grupos de vacas y no encontró una diferencia significativa.

Moreira *et al*, 2002<sup>101</sup> encontraron efecto de la somatotropina sobre los embriones de bovino *in vitro* e *in vivo*, ellos observaron que al adicionar somatotropina o IGF-I en el medio de cultivo de los embriones, se incrementó la proporción de embriones que llegaron a la etapa de blastocito.

Gong *et al*, 1996<sup>102</sup> encontraron en vacas que un pre-tratamiento con somatotropina, incrementaba significativamente ( $P < 0.01$ ) el número de ovulaciones así como el número de embriones recuperados y el número de embriones transferibles. El porcentaje de embriones transferibles, presentó un incremento significativo ( $P < 0.05$ ) en las vacas tratadas con la somatotropina. Esto demuestra un efecto favorable, aunque se desconoce el mecanismo por medio del cual actúa la somatotropina, es posible que el incremento de IGF-I que se da como respuesta a la presencia de la misma, así mismo, se pueda ver reflejado en un incremento de IGF-I en el oviducto y el útero y este aumento en las secreciones del útero, sea un estímulo para el embrión que intenta desarrollarse en un ambiente uterino inadecuado.

Folch *et al*, 2001<sup>98</sup> encontraron en un lote de borregas tratadas para superovular y a cuyo tratamiento se les adicionó somatotropina, que el total de embriones degenerados disminuyó significativamente ( $P < 0.05$ ) y que el número de ovocitos fue menor ( $P < 0.01$ ). Posteriormente en un lote de borregas tratadas con somatotropina, las cuales se utilizarían como receptoras de embriones, presentaron un mayor porcentaje de gestación que el lote de hembras sin somatotropina.

Rieger *et al*, 1991<sup>103</sup> no encontraron una diferencia significativa en el total de embriones colectados en vacas Holstein tratadas con somatotropina, así como tampoco encontraron diferencia en el número de embriones transferibles con respecto al lote testigo, aunque sí encontraron un aumento en el número de ovocitos liberados.

En este trabajo no se encontró una diferencia significativa entre el número de los ovocitos no fertilizados entre los grupos, lo cual sugiere que la somatotropina bovina no ejerce efecto sobre el número liberado de estas estructuras. Aún cuando Rosas, *et al*, 1995<sup>64</sup>, mencionan que en las ovejas tratadas con somatotropina, a las 24 horas, ésta logra estimular un mayor crecimiento folicular, lo que da como resultado

una mayor tasa ovulatoria. Aunque dada la presencia de cuerpos en regresión y a los bajos niveles de progesterona encontrados en dichos animales, ellos mencionan que la somatotropina evitó de alguna manera la regresión prematura de los cuerpos lúteos, más que modificar la tasa de ovulación en las ovejas tratadas.

Así como en el número de ovocitos no fertilizados en ambos grupos fue similar, en el número de estructuras embrionarias encontradas, no se encontró diferencia estadística significativa, en ambos grupos se encontró un número similar de ovocitos y el número de embriones también presentó la misma tendencia.

### **7.3 Efecto de la somatotropina en los niveles plasmáticos de progesterona.**

Rieger *et al*, 1991<sup>103</sup> encontraron una diferencia significativa ( $P=0.04$ ) en los niveles séricos de progesterona en vacas Holstein tratadas con somatotropina, en las que se encontraron niveles significativos de progesterona en el día 6.

Morales *et al*, 2001<sup>104</sup> encontraron en vacas Holstein repetidoras tratadas con somatotropina, que las concentraciones de progesterona tendían a elevarse más en las vacas no gestantes, que en las vacas no tratadas con la somatotropina. La diferencia entre los grupos fue significativa ( $P<0.05$ ) en el día posterior a la inseminación.

Brozos *et al*, 2000<sup>105</sup> observaron que no existió diferencia en los niveles séricos de progesterona entre dos grupos de borregas (tratadas y testigo) e incluso, ellos mencionan que existió tendencia a la presencia de niveles de progesterona más altos en el grupo testigo que en el tratado, esta reducción de progesterona en el grupo tratado, fue atribuida a una dosis elevada de somatotropina aunada a un balance negativo de energía.

Estos autores mencionan que la somatotropina exógena puede incrementar en el suero los niveles de IGF-I, pero que los resultados se notarán más en animales con balance energético positivo que en animales con balance energético negativo. Ellos hacen notar que es importante considerar el estado nutricional del animal antes de cualquier tratamiento con somatotropina.

En este trabajo se ha logrado observar que la somatotropina no presenta efecto alguno sobre los niveles plasmáticos de progesterona en las borregas, contrario a lo encontrado por Rosas *et al*, 1995<sup>64</sup>, quienes sí encontraron un efecto al utilizar la

lactotropina, y quienes hacen énfasis en el aumento que encontraron durante los primeros 6 días postratamiento, cuando la somatotropina es aplicada al inicio del celo o la fase lútea temprana.

Murray *et al*, 1994<sup>93</sup> mencionan que los factores de crecimiento afectan de forma diferente la producción de progesterona y que esto depende de la etapa en la que se encuentre el cuerpo lúteo, ya que en etapas tempranas los factores TGF y EGF ejercen efecto notorio sobre éstos. Sin embargo, Breen *et al*, 1993<sup>94</sup>, mencionan que los IGF-I afectan el cuerpo lúteo tanto en etapas tempranas como en etapas intermedias.

En este trabajo se observó que las ovejas testigo obtuvieron niveles más elevados que el presentado en el lote tratado, dado que el número de animales utilizados es pequeño y a que existen respuestas individuales a la aplicación de la somatotropina, se puede decir que no existió un efecto de la somatotropina sobre los niveles de progesterona.

## 8. CONCLUSIÓN.

En este trabajo se concluye que la administración de somatotropina en las ovejas aparentemente no afectó el número de cuerpos lúteos totales presentes en las ovejas.

El desarrollo de los embriones así como la viabilidad de los mismos tampoco se vieron afectados por el efecto de la somatotropina.

La concentración de progesterona circulante no fue afectada, al parecer se presentó una respuesta individual que enmascara los resultados.

Aparentemente la viabilidad de los embriones provenientes de hembras tratadas con somatotropina, favoreció la fertilidad de las hembras receptoras, sin embargo la prolificidad no se vio afectada.

Se recomienda utilizar en trabajos posteriores un número mayor de ovejas tratadas así como de receptoras al utilizado en este trabajo para poder determinar si el efecto de la somatotropina existe.

## 9. Literatura citada.

1. Hunter RHF. Fisiología y tecnología de la reproducción de la hembra de los animales domésticos. España: Acribia, 1982.
2. Martin HJ, Barry JE. Essential Reproduction. Oxford: Blackwell Scientific Publications, Osney Mead, 1988.
3. Quispe QT. Estudios sobre el uso del acetato de melengestrol para la sincronización e inducción de estros en ovejas (tesis de doctorado). México: Universidad Nacional Autónoma de México, 1989.
4. Godkin JD, Bazer FW, Roberts RM. Ovine trophoblast protein-1 on the earliest secreted blastocysts protein binds specifically to the uterine endometrium and affects protein synthesis. *Endocr.* 1984; 114: 120-130.
5. Roberts RM, Scalue-Francis T. Maternal recognition of pregnancy and embryonic loss. *Theriogenology* 1990; 33: 175-183.
6. Salamonsen LA, Cherng RA, Findlay JK. In vitro studies of the effects of interferons on endometrial metabolism in sheep. *J. Reprod. Fert., Suppl.* 1991;43: 27-38.
7. Hill DJ. Growth factors and their cellular actions. *J. Reprod. Fert.* 1989;85: 723-734.
8. Evans G, Maxwell WMC. Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats. Australia: Butterworths Pty Limited, 1990.
9. Cunninham JC. Fisiología Veterinaria. Interamericana-McGraw Hill, 1994.
10. Valencia MJ, Bustamante CG, Galina GC, Saltiel CA, Becerril A, Calderón YA, Duchateau BA, Fernández BS, Olgún BA, Páramo RR, Zarco QL. Reproducción en Animales Domésticos. México: Limusa, 1986.
11. Hansel W, Convey E. Physiology of the estrous cycle. *J. Anim. Sci. Suppl.* 2 1983; 57: 404 -427.
12. Cole H, Cupps PT. Reproducción de los Animales Domésticos. España: Acribia, 1985. 428-435
13. Clarke YJ. Neuroendocrine control of the ovine oestrus cycle. In. *Reproduction in sheep.* Australia: D.R. Lindsay and D.T. Pearce. Cambridge University Press. 1- 6, 1984.
14. McDonald LE, Pineda MH. *Veterinary Endocrinology and Reproduction.* 4<sup>th</sup> edition London: Lea & Febiger, 1989. 123-134.
15. Hafez ESS. Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. México: Mc Graw Hill, 2000. 60-66.
16. Scaramuzzi RJ, Martin BG. *Reproduction in sheep.* Australian Wool Co. Cambridge: Technical Publication. University Press, 1984. 98-110
17. De Alba J. Reproducción Animal. Estados Unidos: Academic Press, Inc., 1985.398-399.

18. Zarco L, Stabenfeldt GA, Quirke JF, Kindahl H, Bradford GE. Release of prostaglandin  $F_{2\alpha}$  and the timing of events associated with luteolysis in ewe with oestrus cycles of different lengths. *J. Reprod. Fert.* 1988<sup>a</sup>; 83: 517-526.
19. Garverick HA, Zollers WG, Smith MF. Mechanisms associated with corpus luteum lifespan in animal having normal or subnormal luteal function. *Anim. Reprod. Sci.* 1992; 28: 11-124.
20. Horton EW, Poyser NL. Uterine luteolytic hormone: A physiological role for prostaglandin  $F_{2\alpha}$ . *Physiological Reviews* 1976; 56: 596-651.
21. McCracken JA, Scharmamm W, Okulicz WC. Hormone receptor control of pulsatile secretion of PG  $F_{2\alpha}$  from the ovine uterus during luteolysis and its abrogation in early pregnancy. *Anim. Reprod. Sci* 1984; 7: 31-55.
22. Karsch FJ, Legan SJ, Ryan KD, Foster DL. Importance of estradiol and progesterone in regulating LH secretion and behavior during the sheep estrus cycle. *Biol. Reprod.* 1980; 23: 404-413.
23. Knobil E; Neill J. *The Physiology of Reproduction*. 2<sup>nd</sup> Raven press. 1994. 319 – 421.
24. Roberts RM, Leaman WD, Cross CJ. Role of interferons in maternal recognition of pregnancy in ruminants. *Soc. Experimental Biol. Med* 1992; 200:7-18.
25. Geisert DR, Short CE, Zavy TM. Maternal recognition of pregnancy. *Anim Reprod Sci* 1990;68: 719-724.
26. Roberts RM, Farin EC, Cross CJ. Trophoblast proteins and maternal recognition of pregnancy. *Oxford Reviews of Reproductive Biology* 1990;12: 147-180.
27. Moor RM, Rowson LEA. The corpus luteum of sheep: functional relationship between the embryo and corpus luteum. *J Endocrinol* 1966;34:233-239.
28. Roberts RM, Imakawa K, Miwano Y, Kazemi M, Malathy PV, Hansen TR, Glass AA, Kronenberg LH. Interferon production by the preimplantation sheep embryo. *J Interferon Research* 1989;9: 175-187.
29. Zarco L, Stabenfeldt GH, Kindahl H, Quirke JF, Granström E. Persistence of luteal activity in the non-pregnant ewe. *Anim Reprod Sci* 1984;7: 245-267.
30. Zarco L, Stabenfeldt GA, Basu S, Bradford GE, Kindahl H. Modification of prostaglandin  $F_{2\alpha}$  synthesis and release in the ewe during the initial establishment of pregnancy. *J. Reprod. Fert.* 1988<sup>b</sup>; 83: 527-536.
31. Niswender GD, Juengel JL, McGuire WJ, Belfiore CJ, Wiltbank MC. Luteal function: the estrus cycle and early pregnancy. *Biol. Reprod* 1994;50: 239-247.

32. Wiepz GJ, Wiltbank MC, Nett TM, Niswender GD, Sawyer HR. Receptors for prostaglandin's F2 $\alpha$  and E2 in ovine corpora lutea during maternal recognition of pregnancy. *Biol Reprod* 1992; 47:984-991.
33. Wiltbank CM, Wiepz JG, Knickerbockers JJ, Belfiore JC, Niswender DG. Proteins secreted from the early ovine conceptus block the action of prostaglandin F2 $\alpha$  on large luteal cells. *Biol. Reprod.* 1992 46: 475-482.
34. Hunter MG. Characteristics and causes of the inadequate corpus luteum. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 1991; 43: 91-99.
35. Giménez T, Henricks DM. Prolongation of the luteal phase by prostaglandin E2 during the estrus cycle in the cow. A preliminary report. *Theriogenology* 1983; 19: 693-700.
36. Gremmes S. Sekretionsmuster der Gonadotropine nach hormoneller Intervention bei der Stute (doctoral dissertation). Hannover, Deutschland: Tierärztliche hochschule, 1990.
37. Miller KF, Wesson JA, Ginther OJ. Changes in concentrations of circulating gonadotropins following administration of equine follicular fluid to ovariectomized mares. *Biol Reprod* 1979; 21: 867-872.
38. Bergfelt DR, Ginther OJ. Delayed follicular development and ovulation following inhibition of FSH with equine follicular fluid in the mare. *Theriogenology* 1985; 24: 99-108.
39. Roberts RM, Scalue-Francis T. Maternal recognition of pregnancy and embryonic loss. *Theriogenology* 1990; 33: 175-183.
40. Stewart HJ, Guesdon FMJ, Payne JH, Charleston B, Vallet JL, Flint APF. Trophoblast interferon in early pregnancy of domestic ruminants. *J Reprod Fert* 1992; 45: 59-68. Suppl.
41. Godkin JD, Bazer FW, Moffatt J, Sessions F, Roberts RM. Purification and properties of a major, low molecular weight protein released by the trophoblast of sheep blastocyst at day 13-21. *J Reprod Fert* 1982; 65: 141-150.
42. Martal J, Degryse E, Charpigny G, Assal N, Reinaud P, Charlier M, Gaye P, Lecocq JP. Evidence for extended maintenance of the corpus luteum by uterine infusion of a recombinant trophoblast alpha interferon (trophoblastin) in sheep. *J Endocrinol* 1990; 127: R5-R8.
43. Roberts RM, Leaman WD, Cross CJ. Role of interferons in maternal recognition of pregnancy in ruminants. *Society for Experimental Biology and Medicine* 1992; 200: 7-18.

44. Thatcher WW, Bazer FW, Sharp DC, Roberts RM. Interrelationship between uterus and conceptus to maintain corpus luteum function during early pregnancy: sheep, cattle, pig and horses. *J. Anim. Sci. Suppl.* 1986; 2: 47-61.
45. Godkin JD, Bazer FW, Thatcher WW, Roberts RM. Proteins released by cultured day 15-16 conceptuses prolong luteal maintenance when introduced into the uterine lumen of cyclic ewes. *J Reprod Fert* 1984; 71: 57-64.
46. Bazer FW, Vallet JL, Harney JP, Gross TS, Thatcher WW. Comparative aspects of maternal recognition of pregnancy between sheep and pigs. *J Reprod Fert* 1989; 37: 85-89. Suppl.
47. Lamming JL, Vallet JL, Flint APF. Progestational control of endometrial oxytocin receptor determines cycle length in sheep. *J Reprod Fert* 1991; 43: 53-54. Suppl.
48. Gnatek GG, Smith LD, Duby RT, Godkin JD. Maternal recognition of pregnancy in the goat: effects of conceptus removal on interestrus intervals and characterization of protein production during early pregnancy. *Biol Reprod* 1989; 41: 655-663.
49. Bazer FW: Mediators of maternal recognition of pregnancy in mammals. *Soc Experimen Biol Med* 1992; 199: 373-384.
50. Flint APF, Stewart HJ, Lamming GE, Payne JH. Role of the oxytocin receptor in the choice between cyclicity and gestation in ruminants. *J Reprod Fert* 1992; 45: 53-58.
51. Newton GR, Martinod S, Hansen PJ, Thatcher WW, Siegenthaler B, Gerber C, Voirol MJ. Effect of bovine interferon on acute changes in body temperature and serum progesterone concentration in heifers. *J Dairy Sci* 1990; 73: 3439-3448.
52. McLaren A. Desarrollo Embrionario y Fetal. *Prensa Médica Mexicana* 1982; 2:1-43.
53. Drew MN, Alexander L. Embriología de los Animales Domésticos. España, 1990.
54. Green WW and Winters LM. Prenatal development of sheep. University of Minnesota. Agricultural Experiment Station. 1945: 3-33.
55. Armstrong TD, Xia P. Differential mitogenic actions of insulin-like growth factor-I and follicular stimulating hormone on bovine cumulus cells and granulose cells. *Theriogenology* 1993; 39: 181.
56. Kopchick JJ, Cioffi JA. Exogenous and endogenous effects of growth hormone in animals. *Livestock Prod Sci* 1991; 27: 61-75.
57. Dellacha JM, Santome JA, Faiferman L. Molecular weight of bovine growth hormone. *Experientia* 1966; 22: 16-17.
58. Van der Walt JG. Somatotropin physiology. A review. *South African Tydskr Veek* 1994; 24: 1-16.
59. Hall JB, Schillo KK, Fitzgerald BP, Bradley NW. Effects of recombinant bovine somatotropina and dietary energy intake on growth, secretion of luteinizing



- hormone, follicular development, and onset of puberty in beef heifers. *J Anim Sci* 1994; 72: 709-718.
60. Rechler MM. Molecular insights into insulin-like growth factor biology. *J Anim Sci* 1988; 66: 76-183.
61. Palmiter RD, Norstedt G, Gelinas RE, Hammer RE, Brinster RL. Metallothionein-human GH fusion genes stimulate growth of mice. *Science* 1983; 222: 809-814.
62. Eckery DC, Moeller CL, Nett TM, Sawyer HR. Recombinant bovine somatotropin maintains the sensitivity of ovarian follicles to gonadotropins in hypophysectomized ewes. *Biol Reprod* 1993; 143. Sppl 1
63. Morales S. Efecto de un tratamiento corto de rbST (Lactotropina) sobre la fertilidad de vacas Holstein repetidoras (tesis de maestría) México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1993.
64. Rosas J, Zarco L, Valencia J. Efecto de un tratamiento corto de somatotropina bovina recombinante (rbST) sobre la función lútea y el desarrollo embrionario temprano en la oveja superovulada. *Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria*; 1995 noviembre 21-22; México. México (DF): SAGER, UACH, Paiepeme, CP, UNAM.FMVZ.FESC. *Vet Mex* 1995; 26: 339. Suppl 2.
65. Spicer LJ, Echterkamp SE. The ovarian Insulin an insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals. *Dom Anim Endocrinol* 1995; 12:223-245.
66. Izadyar F, Van Tol HTA, Colenbrander B, Bevers MM. Stimulatory effect of Growth Hormone on In vitro maturation of bovine oocytes is exerted through cumulus cells and not mediated by IGF-I. *Mol Reprod Dev* 1997;47: 175-180.
67. Lucy MC, Curran TL, Collier RJ Cole WJ. Extended function of the corpus luteum and earlier development of the second follicular wave in heifers treated with bovine somatotropin. *Theriogenology* 1994; 41: 561-572.
68. Schemm SR, Deaver DR, Griel LC, Muller LD. Effect of recombinant bovine somatotropin on luteinizing hormone and ovarian function in lactating dairy cows. *Biol Reprod* 1990; 42: 815-821.
69. Gallo GF, Block E. Effects of recombinant bovine somatotropin on nutritional status and liver function of lactating dairy cows. *Can J Anim Sci* 1991; 71: 343-353.
70. Lucy MC, Collier RJ, Kitchell ML, Dibner JJ, Hauser SD, Krivi GG. Immunocytochemical and nucleic acid analysis of somatotropin receptor population in the bovine ovary. *Biol Reprod* 1993; 48: 1219-1227.
71. Hill DJ. Growth factors and their cellular actions. *J Reprod Fert* 1989;85: 723-734.

72. Gong GJ, Bramley AT, Wilmut I, Weeb R. Effect of recombinant bovine somatotropin on the superovulatory response to pregnant mare serum gonatropin in heifers. *Biol Reprod* 1993; 48: 1141-1149.
73. Kopchick JJ, Cioffi JA. Exogenous and endogenous effects of growth hormone in animals. *Livestock Prod Sci* 1991; 27: 61-75.
74. Leewenberg BR, Hurts P, McNatty KP. Expression of insulin-like growth factor-I in the sheep ovary. *Biol Reprod* 1993; 184. Suppl 1.
75. Simmen RCM, Ko Y, Simmen FA. Insulin-like growth factors and blastocyst development. *Theriogenology* 1993; 39: 163-175.
76. Martin CR. *Textbook of Endocrine Physiology*. Oxford University Press. New York, 1976.
77. García ME. Modificación del sistema de clasificación climatológica de Köepen. México: FOCET Larios, 1981.146-201.
78. Mejía O, Balcázar A, Luyando C, Valencia J, Rojas S, Saharrea A, Caballero V, Cerbón J. Implementación de la transferencia de embriones en pequeños rumiantes: Memorias de la Reunión de la Investigación Pecuaria. *Veterinaria México, Suplemento* 1995; 2: 343.
79. Ruttle J, Lucero S, Key S, Daniels M, Rodríguez F, Yin HS. Ovine estrus synchronization and superovulation using norgestomet B and follicle stimulating hormone pituitary. *Theriogenology* 1988; 30: 421-427.
80. Wintenberger-Torres S, Sevellec C. *Atlas of the early development of the sheep embryo*. Paris: INRA, Station the Physiologie Animal, 1992.
81. Wrigth JM. Appendix D. Photographic illustrations of embryo developmental stage and quality codes. In: *Manual of the International Embryo Transfer Society*. 5<sup>th</sup> Edition 2003; 167.
82. Schiewe MC, Bush M, Stuart LS, Wildt DE. Laparoscopic embryo transfer domestic sheep: a preliminary study. *Theriogenology* 1984; 22: 675-682.
83. Flores G, Amezcua R, Zarco L, Ducoing A, Quispe Q. Pregnancy diagnosis by progesterone determination on day 18 postservice in the ewe. Comparison of radioimmunoassay and enzimeinmunoassay. *Proceedings 12<sup>th</sup> International Congress on Animal Reproduction, The Hague, 1992*; 45-47.
84. SAS/STAT, guide for personal computers, version 6.03 SAS. USA: Institute Inc. Cary, 1991. 35-79.
85. Gill JL. *Desing and Analysis of Experiments in the Animal and Medical Science*. USA: University Press/Amess, 1978.
86. Menchaca MA. *Manual de diseño experimental*. México: Universidad Nacional Autónoma de México, 1993.

87. Herrler A; Einspainer R; Schams D; Nieman H. Effect of recombinant bovine somatotropin (rBST) on follicular IGF-I contents and ovarian response following superovulatory treatment in dairy cows: A preliminary study. *Theriogenology*, 1994; 601-611.
88. Ekery DC; Moeller CL; Nett TM; Sawyer HR. Recombinant bovine somatotropin does not improve superovulatory response in sheep. *Journal Animal Science*, 1994; 2425-2430.
89. Wathes DC; Peras CM; Davis AJ; Denning-Kendall PA. Regulation of insulin-like growth factor-I and progesterone synthesis by insulin and growth hormone in the ovine ovary. *Biology of reproduction*, 1995; 882-889.
90. Stanko RL; Armstrong JD; Chinck WS; Harvey RW; Simpson RB; Hartnell GF; Heime EP; Campell RM. Effect of daily replacement therapy with recombinant bovine somatotropin on somatotropin, insulin-like growth factor-I and onset of puberty in beef heifers immunized against growth hormone-releasing factor. *Journal Animal Science*, 1994; 1786 -1794.
91. Tannetta D; Fray MD; Wrathall JH; Bleach ECL; Glencross RG; Knigh PG. Effects of supplementary treatment with bovine growth hormone (bst) on hormonal and ovulatory response to inhibin immunization in the ewe. *Journal of Reproduction and Fertility*, 1995; 58.
92. Gong JG; Baxter G; Bramley TA and Webb R. Enhancement of ovarian follicle development in heifers by treatment with recombinant bovine somatotropin: a dose-response study. *Journal of Reproduction and Fertility*, 1997; 91-97.
93. Murray, JF; Downing, JA; Evans, G; Findlay, JK; Scaramuzzi, RJ; Changes in progesterone secretion following treatment with transforming growth factor alpha ( TGF- $\alpha$ ) during the follicular phase of sheep oestrus cycle. *Journal of Reproduction and Fertility* 101:3, 1994; 721-727.
94. Breen, CM; Poff, JP and Tsang, PCW: Effects on insulin-like growth factor, placental derived growth factor and LH on progesterone production and cell numbers in early bovine luteal culture. *Biology of Reproduction* vol. 5 suppl abst, 1994; 399.
95. Spicer LJ, Alpizar E, Echternkamp SE: Effects of insulin, insulin-like growth factor I, and gonadotropins on bovine granulosa cell proliferation, progesterone production, estradiol production, and (or) insulin-like growth factor I production *In vitro*. *Journal Animal Science*. 1993; 71: 1232-1241.
96. Driancourt MA and Disenhouse C. Lack of effects of growth hormone administration on ovarian function of lactating goats. *Animal Reproduction Science* 46: 1-2, 1997; 123-132.

97. De La Sota RL, Lucy MC, Staples CR, Thatcher VW. Effects of recombinant bovine somatotropin (Sometribove) on ovarian function in lactating and non lactating dairy cows: *Journal Dairy Science* 1993; 76:1002-1013.
98. Folch J, Ramón JP, Cocero MJ, Alabart JL and Beckers JF. Exogenous growth hormone improves the number of transferable embryos in superovulated ewe. *Theriogenology* 2001; 9:1777-1785.
99. Lucy MC, Bilby CR, Kirby CJ, Yuan W, Boyd CK. Role of growth hormone in development an maintenance of follicles and corpora lutea. *Journal of Reproduction and Fertility. Sppl* 1999; 54: 45-59.
100. Hasler JF, Bilby CR, Collier RJ, Denham SC and Lucy MC. Effect of recombinant bovine somatotropin on superovulatory response and recipient pregnancy rates in commercial embryo transfer program. *Theriogenology* 2003; 59:1919-1928.
101. Moreira F, Paula-Lopes FF, Hansen PJ, Bandinga L, Thatcher WW. Effects of growth hormone and insulin-like growth factor on development on in vitro derived bovine embryos. *Theriogenology* 2002; 57: 895-907.
102. Gong JG, Wilmut I, Bramley TA and Webb R. Pretreatment with recombinant bovine somatotropin enhances the superovulatory response to FSH in heifers. *Theriogenology* 1996; 45:611-622.
103. Rieger D, Walton JS, Goodwin ML and Johnson WH. The effect of co-treatment with recombinant bovine somatotrophin on plasma progesterone concentration and number of embryos collected from superovulated Holstein heifers. *Theriogenology* 1991; 35: 863-868.
104. Morales-Roura JS, Zarco L, Hernández-Cerín J and Rodríguez G. Effect of short-term treatment with bovine somatotropin at estrus on conception rate and luteal function of repeat-breeding dairy cows. *Theriogenology* 2001; 55-Issue 9: 1831-1841.
105. Brozos CN, Saratsis Ph, Boscós C, Kyriakis SC and Alexopoulos C. The effect of bovine somatotropin (bST) administration on reproduction, progesterone concentration during lactation and LH secretion during estrus, in dairy ewe. *Animal Reproduction Science* 56; Issue 3-4: 177-187.