



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**RESPUESTA A UN TRATAMIENTO SUPEROVULATORIO
A BASE DE HORMONAS GONADOTRÓPICAS EN RATAS
WISTAR DURANTE DIFERENTES MESES DEL AÑO**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

PRESENTAN

**ETHEL CATERINA GARCÍA Y GONZÁLEZ
Y
EDITH NANDAYAPA DUARTE**

ASESOR:

DR EN C. MIGUEL ANGEL CORNEJO CORTÉS

COASESORES:

**M. en F. GERMÁN ISAURO GARRIDO FARIÑA
M. en C. CRISÓFORO MERCADO MÁRQUEZ**

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIAS

Dedicado primero que nada a Dios Todo Poderoso porque sin tu gracia nada de esto sería posible.

A mis papis Pablo García y Salinas y Zenaida González de la Luz, gracias a su amor, dedicación y esfuerzo forjaron mis cimientos y hoy llego a la culminación de mi primer gran proyecto; los amo.

A mis hermanas Carolina y Paola por que sin su apoyo, cariño constante y su guía jamás hubiera sido posible todo esto; las amo.

A mi abuela Etelvina Salinas porque desde el cielo cerca de Dios Mima esto es para ti.

A Mirrus, Towi, Nana, Chaparrita, Puchus, Gorda, Bolo, Moris, Lucas, Sally, Arena, Anastasia, Jade, Cokis, Hanna, Danonino, Quetzalcóatl, Iztacihuatl, Grisi, Duquesa, Samantha, Chule, Mikey, Boni, Digita, Dogo, Ramsés, Yagger, Violeta, Golfo, Alazana, Waterloo, Clemente, Dolly, Nena, Kika, Akela, Chiquis, Greñas, Vaca, Negro, Charol, Pumba, Daisy, Federico, Borola, Lin, China, Chanty, Chispa, Gusy, Micro, Moma, Canuto, Polly, Canica, Jelly, Barril, Sombra, Frijol, Polar, Coco, Orejitas, Negra, Flaca, Güerita, Zuri, Yaya, Manitas, Chata, Peluchina mis amados compañeros peludos, sin ustedes mi vida jamás estaría completa.

A mis muy mejores amigas Edith Nandayapa y Lisbeth López, comadres porque gracias a Dios ustedes están presentes en mi vida, las quiero muchisisisisisimo amigas.

A mis amigos: Brenda, Gerardo que son mis otros muy mejores amigos. Los quiero muchote.

A Tania, Bibiana, Iván, Jonathan, Juanita, Claudia, Luis, Amado y Víctor; Médicos Veterinarios Zootecnistas por su cariño y por su apoyo incondicional los quiero mucho.

A mi mejor amiga de toda la vida Jimena Reyes por estar siempre apoyándome y por tu cariño amiga, mil gracias.

A todos mis amigos del MJVC (Sandy, Angeles, Dulce, Meliza, Steff, Alan, Jaime, Jorge, Beto, Lety, Angie, Erika, Rosy) gracias a Dios siguen estando presentes en mi vida.

A mi Paulete “Paleta” donde quiera que estés

Al M en C Rodolfo Ibarrola usted sin querer participo en este trabajo y parte de este logro es suyo.

A mi amada FES-C por ser mi segundo hogar y forjarme como una Médica Veterinaria Zootecnista.

Ethel Caterina García y González.

DEDICATORIAS

A ti que desde que vine a este mundo te preocupaste por mis necesidades y a pesar de que deseabas un rumbo diferente para mí me diste todo tu apoyo cuando decidí cual sería el camino que seguiría. Te dedico este que es el camino al que me encaminaste y espero no defraudarte pues nunca podre pagarte todo lo que me has dado. Aunque dios no permitió que me acompañaras físicamente se que ahora tengo un ángel que me cuidara y protegerá como siempre lo hizo.....

Te Amo Papa !!

A ti Mama que a pesar de los momentos difíciles siempre me has dado tu apoyo incondicional. Tú nos inspiras a ser mejores personas cada día y sobre todo a superarnos. Siempre has querido lo mejor para tus hijos y siempre te las arreglas para darnos lo mejor. Quiero compartir esto contigo, la mujer más importante de mi vida, la más fuerte que conozco y nunca dejare de admirarte. Te quiero MAMI

A mis Hermanos Maribel, Eduardo, Karla y Manuel que siempre me han apoyado y que con su ejemplo me han sabido guiar, juntos hemos pasado miles de cosas por eso comparto con ustedes este gran momento.

A mis mejores amigas Ethel y Lis que han vivido junto a mi todo este proceso y que sin su compañía y cariño nunca habiéramos podido llegar hasta aquí. Las quiero mucho!!!!!!!

Edith Nandayapa Duarte

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó con el financiamiento del Proyecto PAPIME-PE202805 "MEJORAMIENTO DE LA ENSEÑANZA EN LA ASIGNATURA DE CITOLOGÍA, EMBRIOLOGÍA E HISTOLOGÍA, MEDIANTE LA INNOVACIÓN DE LAS PRÁCTICAS DE EMBRIOLOGÍA, PARA LOS ALUMNOS DE LA CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA".

Primero que nada a Dios Nuestro Señor por ayudarnos a culminar este trabajo.

A nuestros padres por todo su apoyo, esfuerzo y guía, esto también es suyo.

A la persona más comprometida con el proyecto, Dr Miguel Angel Cornejo Cortés por que sin su guía doctor esto no sería posible; es usted una gran persona y hemos aprendido mucho de usted, gracias, de verdad mil gracias doctor. Dios lo bendiga siempre.

Al M en F Germán Garrido por todo su apoyo, sus consejos y toda su confianza. Mil Gracias y que Dios lo bendiga.

Al M en C Crisóforo Mercado por su paciencia y su apoyo. Gracias.

A la Dra. Angélica Terrazas por su confianza, su apoyo y por alentarme cada día a ser mejor, Dra la admiro mucho y cuando yo sea grande quiero ser como usted.

A la MVZ Ma Reyes Pichardo por escucharnos, orientarnos y por ser una gran amiga, gracias es usted un ejemplo a seguir, la queremos muchísimo que Dios la Bendiga siempre.

Al M en C Thomas Hernández por que nos brindo las facilidades para esterilizar nuestro material y de esta forma contribuyo en la parte experimental del proyecto, gracias.

A Lourdes Gaspar por todo su apoyo, confianza y cariño, eres una gran amiga.

A los Sinodales, MC Misael Rubén Oliver, Dr Miguel Angel Cornejo, MC Patricia Mora, MVZ Hugo César López y MVZ Norhan Cortés que me brindaron parte de su tiempo para conocer y revisar este trabajo.

Al M en C Rodolfo Ibarrola Uribe por que usted siempre creyó en mí, le agradezco su ejemplo, confianza y cariño; este trabajo también es suyo. Por ser mí maestro no solo en la carrera, sino también en la vida. Gracias por todo.

A la M en C Rosalba Soto por ser un ejemplo a seguir, gracias por su consejo y apoyo.

A los Académicos de la carrera por ser parte fundamental en nuestra formación profesional, gracias por desempeñar tan bien su trabajo.

Al eMVZ Ramón Alvarado por tu apoyo incondicional, porque cada día nos enseñas algo nuevo, por tu gran ángel y tu entusiasmo constante, te queremos muchote. Gracias por ser tú.

A Gabriela Portilla por ser parte de este proyecto, eres muestra de que cada día y en cada etapa de la vida conocemos personas que nos alienta a seguir, te queremos mucho y gracias por estar ahí.

A los eMVZ que han formado parte de nuestra vida, gracias por enseñarnos algo nuevo todos los días.

A la MVZ Alicia Alcantar porque en muy poco tiempo de conocerte podemos entender que eres una persona con un corazón enorme, gracias por apoyarnos y por brindarnos tu confianza. Te queremos.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por permitirnos ser parte de su sangre azul y su piel dorada.

ATTE. ETHEL Y EDITH

ÍNDICE

Índice	1
Resumen	3
Introducción	4
Hormonas.....	4
Acción hormonal endócrina, parácrina y autócrina.....	5
Receptores hormonales	6
Hormonas Primarias de la Reproducción.....	7
1. Hormonas Adenohipofisarias.....	7
2. Hormonas Esteroides Gonadales.....	8
3. Hormonas Placentarias.....	10
Regulación Hormonal de la Reproducción.....	11
Superovulación.....	11
Principales Características de la Rata.....	14
Objetivos	16
Materiales	17
Metodología	19
Resultados	29
Discusión	33
Conclusiones	36

Bibliografía	37
---------------------------	----

Apéndices

Índice de imágenes y tablas

Imagen 1	19
Imagen 2.....	20
Imagen 3.....	21
Imagen 4.....	22
Imagen 5.....	23
Imagen 6.....	24
Imagen 7.....	25
Imagen 8.....	26
Imagen 9.....	26
Imagen 10.....	27
Imagen 11.....	28
Imagen 12.....	31
Imagen 13.....	31
Imagen 14.....	32
Tabla 1.....	30

RESUMEN

Este trabajo de tesis experimental se realizó con el objetivo de evaluar la eficiencia de un tratamiento superovulatorio a base de hormonas gonadotrópicas eCG (PMSG)/hCG, en ratas wistar durante diferentes meses del año. Para conseguir lo anterior, se planteó un diseño experimental en el cual se administró un tratamiento superovulatorio (30 UI de eCG y 50 UI de hCG) en ratas wistar de 12 semanas de edad, los tratamientos se aplicaron en diferentes meses del año, en cada mes se utilizó un grupo con 10 ratas wistar a las cuales se les aplicó el tratamiento. El experimento se realizó en 110 ratas wistar; los cuales se mantuvieron a una temperatura de 13-15° C, humedad relativa de 20-30% y fotoperiodo natural. La inoculación de las hormonas se realizó por la vía subcutánea, el día 1 se inoculaban 30 UI de eCG y 50 hrs después se aplicaban 50 UI de hCG; 12 horas después de la aplicación de la segunda hormona se pasaba a las hembras con los machos en condiciones de monogamia. Los machos se separaron 5 días después de la cruce y a las hembras se les aplicó eutanasia 10-16 días después de la cruce. En cada hembra se realizó una laparatomía y se disecó el útero el cual se colocó en formol neutro amortiguado (temperatura ambiente) para conseguir una fijación. A partir de cada útero se obtuvieron los diferentes embriones que después de ser contados fueron donados al laboratorio de Histología y Embriología para que se realizaran preparados permanentes que se utilizarán con fines de docencia. Los tratamientos se compararon evaluando su eficiencia durante los diferentes meses del año, los parámetros utilizados fueron: a) número de hembras gestantes y b) número promedio de embriones producidos por hembra y c) número total de embriones por grupo. En cuanto al número de hembras gestantes Junio fue el mes con mayor número de hembras gestantes con 6 hembras que corresponde a un 60 % de fertilidad, en lo que se refiere al promedio de embriones producidos por hembra el mes de Diciembre fue el mes en el cual se obtuvo el promedio más alto con 17.5 embriones por hembra; aunque el porcentaje de fertilidad en este mes solo es del 20 %. En lo que se refiere a número total de embriones por grupo los meses de Marzo y Julio fueron los meses donde hubo mayor número de embriones producidos, 68 embriones por grupo. Los resultados sugieren que Marzo y Julio son los meses ideales para aplicar el tratamiento superovulatorio en roedores bajo condiciones de temperatura ambiente en la zona de Cuautitlán Izcalli.

INTRODUCCIÓN

Con el paso del tiempo, el conocimiento del control de la reproducción en los mamíferos ha cambiado de pensar solamente en el Sistema Nervioso Central (SNC) a comprender una regulación por dos sistemas separados, el SNC y el sistema endócrino. Después, se descubrió que el hipotálamo une los dos sistemas a través de un sistema porta hipotálamo-hipofisiario para coordinar las funciones de las gónadas. Así, el último decenio ha sido testigo del descubrimiento de mensajeros químicos (factores de crecimiento) y la presencia de hormonas de regulación autocrina/parácrina dentro de las gónadas. Estos avances ayudaron a comprender fenómenos que hasta ahora no podían ser explicados a través de un control únicamente. El sistema endócrino y el sistema nervioso funcionan para mediar, coordinar o regular las funciones del sistema reproductor. A diferencia del sistema nervioso, que controla las funciones del cuerpo a través de impulsos nerviosos eléctricos rápidos (por ejemplo, sistema músculo esquelético), el sistema endócrino utiliza mensajeros químicos u hormonas para regular procesos corporales lentos, como el crecimiento y la reproducción. (Hafez y col., 2002; Best y Taylor, 2003; Cunningham, 2003)

Hormonas

Las hormonas son sustancias químicas señalizadoras producidas por células especializadas que forman parte de las denominadas *glándulas endócrinas*. Las hormonas son vertidas en la sangre y son transportadas a su órgano blanco. También existen las hormonas producidas por los tejidos que solo ejercen su actividad en las células próximas, estas poseen funciones reguladoras, fisiológicas y bioquímicas. (Hafez y col., 2002; Koolman y col., 2004; Best y Taylor, 2003; Cunningham, 2003).

Los límites entre las hormonas y otras sustancias señalizadoras (mediadores, neurotransmisores y factores de crecimiento) no están muy definidos. Los mediadores (histamina y prostaglandinas) son sustancias señal que no proceden de células especializadas formadoras de hormonas sino que son formadas por diversos tipos de células que ejercen acciones similares a las de las hormonas en los alrededores. Las **neurohormonas** y los **neurotransmisores** son sustancias señal producidas y liberadas por

las células nerviosas. (Hafez y col., 2002; Koolman y col., 2004; Best y Taylor, 2003; Cunningham, 2003).

Las más de 100 hormonas y sustancias similares a hormonas que existen en el organismo animal pueden clasificarse según su estructura o según su función.

Según su estructura bioquímica las hormonas se dividen en:

1. **Proteínas.** Hormonas polipeptídicas con un peso molecular que varía entre 300 a 70,000 Daltons, por ejemplo, oxitocina, FSH y LH. (Hafez y col., 2002; Best y Taylor, 2003; Cunningham, 2003).
2. **Esteroides.** Derivan del colesterol y tienen un peso molecular de 300 a 400 daltons, por ejemplo, testosterona. (Hafez y col., 2002; Best y Taylor, 2003; Cunningham, 2003).
3. **Ácidos grasos.** Derivan del ácido araquidónico que tiene un peso molecular de alrededor de 400 daltons. (Hafez y col., 2002; Best y Taylor, 2003; Cunningham, 2003).
4. **Aminas.** Derivan de la tirosina o triptófano, por ejemplo, melatonina. (Hafez y col., 2002; Best y Taylor, 2003; Cunningham, 2003).

Las funciones de las hormonas son muy variadas, entre otras regulan:

- **El crecimiento y la diferenciación de las células, los tejidos y los órganos.**
- **Las vías metabólicas.**
- **Los procesos digestivos.**
- **El mantenimiento de la concentración de los iones (homeostasis)** (Hafez y col., 2002; Koolman y col., 2004; Best y Taylor, 2003; Cunningham, 2003).

Acción hormonal endócrina, parácrina y autocrina.

Las hormonas transmiten una señal desde su sitio de producción hasta el sitio de acción al que se desplazan. El transporte generalmente tiene lugar por medio de la sangre. En este caso hablamos de una **acción endócrina**. Por el contrario las hormonas *tisulares*, que

actúan localmente sobre células blanco que se encuentran en la cercanía inmediata del sitio de origen, tienen una **acción parácrina**. Cuando las moléculas señal actúan sobre la misma célula que las produce se habla de una **acción autocrina**. (Hafez y col., 2002; Koolman y col., 2004; Best y Taylor, 2003; Cunningham, 2003).

Las hormonas son secretadas de forma intermitente e irregular de forma que su concentración varía en forma **episódica o pulsátil**. Esto sucede por ejemplo con la hormona luteinizante (LH). Las concentraciones sanguíneas de las hormonas son reguladas con exactitud mediante el control de su síntesis, liberación y degradación. (Hafez y col., 2002; Koolman y col., 2004; Best y Taylor, 2003; Cunningham, 2003).

Las hormonas glandulares actúan sobre las células blanco (células efectoras) del organismo. Además, actúan en forma retrógrada sobre los sistemas hormonales superiores. Por medio de esta retroalimentación o “feed back” (en la mayor parte de los casos negativo) se influye sobre la concentración de las hormonas de niveles superiores y se establece un circuito regulador. (Hafez y col., 2002; Koolman y col., 2004; Best y Taylor, 2003; Cunningham, 2003).

Receptores hormonales

Cada hormona tiene un efecto selectivo en uno o más órganos blanco. Este efecto se logra mediante dos mecanismos:

- Cada órgano blanco tiene un método específico para enlazar esa hormona que no se encuentra en otro tejido. (Hafez y col., 2002; Cunningham, 2003).
- Los órganos blanco tienen algunas vías metabólicas capaces de responder a las no compartidas por el tejido que no es el blanco. (Hafez y col., 2002; Cunningham, 2003).

El mecanismo usual es el enlace específico. Por ejemplo, todos los tejidos blanco que responden a hormonas esteroides contienen una **proteína receptora** dentro de la célula, que específicamente une a la hormona activante. Dentro de la célula blanco, la hormona esteroide se encuentra en el citoplasma, unida a una proteína relativamente grande (peso molecular, 200 000 Daltons). La unión resulta en la transformación o activación del

complejo de proteína esteroide, permitiéndole moverse (translocarse) hacia el núcleo de la célula. En el núcleo el complejo esteroide se une a un receptor específico y causa una secuencia de respuestas fisiológicas específicas para esa célula. (Hafez y col., 2002; Cunningham, 2003).

Las células blanco de la hipófisis anterior poseen receptores en la membrana celular que reconocen y se unen selectivamente a las hormonas proteínicas incluidas las gonadotropinas. El fenómeno de enlace activa la síntesis y la secreción de la hormona hipofisiaria por la vía del sistema AMP cíclico-proteincinasa de la célula. A su vez, los niveles de estrógeno influyen en los receptores de la gonadotropina. (Hafez y col., 2002; Cunningham, 2003).

Hormonas Primarias de la Reproducción

Las hormonas primarias regulan los diferentes procesos reproductivos, mientras que las secundarias o metabólicas influyen en la reproducción de manera indirecta. Las hormonas primarias están involucradas en muchos aspectos de los procesos reproductivos: espermatogénesis, ovulación, comportamiento sexual, fertilización, implantación, mantenimiento de la gestación, parto, lactancia y comportamiento materno. Las hormonas reproductivas se derivan primordialmente de: **hipotálamo, lóbulos anterior y posterior de la hipófisis, gónadas** (testículos y ovario), **útero** y **placenta**. (Hafez y col., 2002; Best y Taylor, 2003; Cunningham, 2003).

Hormonas Adenohipofisarias

El lóbulo anterior de la hipófisis secreta tres hormonas reproductivas de nominadas gonadotropinas: FSH, LH y prolactina. La LH y FSH son hormonas glucoproteícas con un peso molecular de alrededor de 32000 daltons, los gonadotropos en el lóbulo anterior de la hipófisis secretan ambas hormonas. Cada una de ella consiste en dos subunidades diferentes llamadas subunidades alfa y beta. La subunidad alfa es común a la FSH y a la LH, mientras que la subunidad beta es diferente y otorga especificidad a cada gonadotropina. Las subunidades alfa y beta de cualquiera de estas hormonas no tienen actividad biológica por sí misma. Adicionalmente algunos péptidos gonadales regulan la secreción de FSH. Estos

estimulan (activitas) o inhiben (inhibinas, folistatina) la secreción de FSH. (Hafez y col., 2002; Best y Taylor, 2003; Cunningham, 2003).

- **Hormona folículo estimulante.** La hormona folículo estimulante promueve el crecimiento y la maduración del folículo ovárico o folículo de Graff. La FSH no causa la secreción de estrógeno del ovario por sí sola, sino que necesita de la presencia de LH para estimular la producción de estrógeno. En el macho, la FSH actúa en las células germinales de los túbulos seminíferos de los testículos y es responsable de la espermatogénesis hasta el estado de espermatozoides secundarios; posteriormente, andrógenos de los testículos apoyan las etapas finales de la espermatogénesis. (Hafez y col., 2002; Best y Taylor, 2003; Cunningham, 2003; Hill, 2006).
- **Hormona luteinizante.** La hormona luteinizante es una glucoproteína compuesta de una subunidad alfa y una beta con un peso molecular de 30 000 Daltons y una actividad biológica media de 30 min. Los niveles tónicos o basales de LH actúan conjuntamente con FSH para inducir la secreción de estrógenos del folículo ovárico grande. La oleada preovulatoria de la LH es causante de la ruptura de la pared folicular y de la ovulación. La LH estimula las células intersticiales del ovario y los testículos. En el macho, las células intersticiales (células de Leydig) producen andrógenos después de la estimulación con LH. (Hafez y col., 2002; Best y Taylor, 2003; Cunningham, 2003; Hill, 2006).

Hormonas Esteroides Gonadales

Son secretadas primordialmente por los ovarios y testículos. También los órganos no gonadales, como las glándulas suprarrenales y la placenta, secretan hormonas esteroides en cierta medida. Estas son de cuatro tipos: andrógenos, estrógenos, progesterona y relaxina. Los tres primeros tipos son esteroidales, mientras que el cuarto es una proteína. Los ovarios producen dos hormonas esteroidales, estradiol y progesterona, y una hormona proteica, la relaxina; los testículos secretan una sola hormona, la testosterona. Las vías biosintéticas en todos los órganos endócrinos que producen hormonas esteroidales son similares, los

órganos se diferencian solamente por los sistemas enzimáticos que contienen. Los testículos sintetizan andrógenos principalmente, mientras que los ovarios sintetizan dos tipos principales de esteroides: estrógenos de 18 carbonos y progestinas de 21 carbonos. (Hafez y col., 2002; Best y Taylor, 2003; Cunningham, 2003).

- **Estrógenos.** El estradiol es el estrógeno primario, con estroma y el estriol que representa otros estrógenos metabólicamente activos. Varias sustancias de actividad estrogénica se encuentran tanto en el reino animal como en el vegetal. (Hafez y col., 2002; Best y Taylor, 2003; Cunningham, 2003; Hill, 2006). El estradiol es el estrógeno biológicamente activo producido por el ovario con pequeñas cantidades de estrona. Excepto por la posible secreción de pequeñas cantidades de estriol en la fase lútea del ciclo, la mayor parte del estriol y estrógenos urinarios relacionados son productos de la descomposición metabólica del estradiol/estroma secretados. Todos los estrógenos ováricos se producen a partir de precursores androgénicos. (Hafez y col., 2002; Best y Taylor, 2003; Cunningham, 2003; Hill, 2006).

De todos los esteroides, los estrógenos tienen el rango más amplio de funciones fisiológicas. Algunas de estas son:

1. Actuar sobre el SNC para inducir el comportamiento estral en la hembra. (Hafez y col., 2002, Best y Taylor, 2003; Cunningham, 2003; Hill, 2006).
2. Actuar en el útero para aumentar la amplitud y la frecuencia de las contracciones, potencializando los efectos de la oxitocina y la $\text{PGF2}\alpha$. (Hafez y col., 2002, Best y Taylor, 2003; Cunningham, 2003; Hill, 2006).
3. Desarrollar físicamente los caracteres sexuales secundarios femeninos.
4. Estimular el crecimiento de los conductos y causa el desarrollo de la glándula mamaria. (Hafez y col., 2002, Best y Taylor, 2003; Cunningham, 2003; Hill, 2006).
5. Ejercer el control de retroalimentación tanto positiva como negativa en la liberación de LH y FSH a través del hipotálamo. (Hafez y col., 2002, Best y Taylor, 2003; Cunningham, 2003; Hill, 2006).

Hormonas Placentarias

La placenta secreta varias hormonas, ya sean idénticas o con una actividad biológica similar a la de hormonas de la reproducción en los mamíferos: gonadotropina coriónica equina eCG (PMSG), gonadotropina coriónica humana (hCG), lactógeno placentario (PL), y proteína B. (Hafez y col., 2002)

- **Gonadotropina Coriónica Equina.** La hormona eCG se descubrió cuando la sangre de yeguas preñadas producía maduración sexual en ratas inmaduras, por esta razón también se le conoce como hormona PMSG (gonadotropina de suero de yegua preñada). La eCG es una glucoproteína con subunidades alfa y beta similares a las de la FSH y LH, pero con un mayor contenido de carbohidratos, especialmente ácido salicílico que parece ser responsable de una vida media larga de varios días para la eCG. Por lo tanto, una sola inyección de eCG tiene efectos biológicos en la glándula blanco por más de 1 semana. (Hafez y col., 2002; Hill, 2006)

El útero equino secreta esta gonadotropina placentaria cuya fuente de origen son las copas endometriales, que se forman alrededor del día 40 de la preñez y persisten hasta el día 85. La eCG tiene las acciones biológicas de la FSH y de la LH, siendo dominantes las acciones de la FSH, circula en la sangre de las yeguas preñadas y no se excreta por la orina. Esta hormona estimula el desarrollo de los folículos ováricos, de estos algunos ovulan, pero la mayor parte se vuelven folículos luteinizados, debido a la acción de la eCG parecida a la de LH. Estos cuerpos amarillos accesorios producen progestágenos, que mantienen la preñez de la yegua. (Hafez y col., 2002; Hill, 2006)

- **Gonadotropina Coriónica Humana.** La glucoproteína hCG consiste en subunidades alfa y beta con un peso molecular de 40000 Daltons. La subunidad alfa tiene 92 aminoácidos y dos cadenas de carbohidratos. La subunidad alfa de hCG es similar a las subunidades alfa de LH humano, porcino, ovino y bovino. La subunidad beta tiene 145 aminoácidos principalmente luteinizante y luteotrópica y tiene poca actividad de FSH. La hCG es sintetizada por las células

sincitiotrofoblásticas en la placenta de los primates: se encuentra hCG tanto en sangre como en la orina. (Hafez y col., 2002)

Regulación Hormonal de la Reproducción

Ciclo Estral. Durante este ciclo, se liberan LH y FSH de manera tónica o en oleadas. Las trayectorias neurales también están relacionadas con el momento de la ovulación. Las oleadas de la LH y de FSH inducen las etapas finales de la maduración del oocito a la metafase II, justo antes de la ovulación. Un segundo tipo de liberación de LH y de FSH, es la llamada oleada preovulatoria. Un aumento en la concentración de estrógeno circulante tiene un efecto de retroalimentación positiva en el hipotálamo, induciendo una oleada repentina de liberación de GnRH, la cual se acompaña por la oleada preovulatoria de LH y FSH, que dura de 6 a 12 h y son responsables de la ovulación. (Hafez y col., 2002; Best y Taylor, 2003; Hill y col., 2006).

Los niveles de estradiol disminuyen después de las oleadas de LH y de FSH, y se reducen con esto las manifestaciones físicas del estro. El animal ovulará de 24 a 30h después de la oleada máxima inicial de gonadotropinas. (Hafez y col., 2002; Best y Taylor, 2003; Hill y col., 2006).

El control del desarrollo y secreción del folículo maduro ocurre en tres niveles:

1. Las gonadotropinas inician el desarrollo del folículo.
2. El folículo maduro produce factores de crecimiento que suprimen el desarrollo de otros folículos a través de mecanismos dependientes de gonadotropinas.
3. Factores dentro del folículo ovárico, que modulan las acciones de las gonadotropinas. (Hafez y col., 2002; Best y Taylor, 2003).

Superovulación

Es un método en el cual se aplican tratamientos a base de gonadotropina para producir una maduración mayor de folículos que potencialmente darán origen a oocitos, la subsecuente

transferencia de embriones y así aumentar la capacidad reproductiva de la hembra. Esta técnica es ampliamente usada en animales de granja y laboratorio. Los folículos preovulados cuya maduración fue inducida por la administración de gonadotropinas, se han utilizado para investigación de muchos procesos reproductivos. Entre los animales de laboratorio utilizados más frecuentemente se encuentran, las ratas y los ratones, de manera menos frecuente se encuentran el conejo, hámster, y el hurón. (Szoltys y col., 1994).

La literatura científica, menciona varios tratamientos superovulatorios empleados en ratas, entre los principales se encuentran:

OBJETIVO	TRATAMIENTO	PRINCIPALES RESULTADOS	AUTOR/AÑO
Superovulación y respuesta de hormonas esteroideas	Ratas inmaduras (28 días de edad) fueron inyectadas con 4, 20 o 40 UI de PMSG.	Las ratas control (4UI) ovularon entre las 60 y 72 hrs, mientras que las ratas con dosis de 20 a 40 UI de PMSG ovularon entre las 24 y 72 hrs. Los resultados sugieren que las alteraciones en la respuesta esteroidea (particularmente andrógenos) desde las 36 hrs en adelante seguido de la superovulación puede ser responsable de la anomalía de los oocitos posiblemente por la alteración de los esteroides intrafoliculares, que es el entorno esencial para completar la maduración.	Yun YW. Yuen BH/1988
Ovogénesis, fertilización y desarrollo embrionario temprano.	PMSG en dosis de 0, 5, 10, 20 y 40 UI en la etapa del diestro.	Los resultados mostraron más oocitos y embriones fertilizados in vivo que fueron recuperados de las ratas estimuladas con 20 UI de PMSG. Sin embargo se encontró un gran número de oocitos y embriones anormales. Las altas dosis de PMSG causan un descenso en los oocitos fertilizados in vitro y grandes títulos de degeneración embrionaria.	Goh HH. Yang XF./1992
Ovogénesis, fertilización, y	PMSG (dosis de 0,10 y 20 UI) en	Los resultados mostraron mayor número de oocitos y embriones fertilizados in vivo de las	Goh HH.

desarrollo embrionario temprano.	el diestro seguido de diferentes dosis de hCG de (0,10, 20, 30 y 40) para inducir la ovulación.	<p>ratas estimuladas con 20 UI de PMSG.</p> <p>Según los resultados el número de oocitos y de embriones depende más de la dosis de PMSG que de la dosis de hCG para inducir la ovulación, por lo cual no es necesario aumentar la dosis.</p> <p>Por otro lado dosis altas de PMSG mostraron bajos niveles de fertilización in vivo e in vitro, igualmente las dosis altas de hCG sin previa estimulación de PMSG muestran los mismos resultados.</p>	Yang XF./1992
Superovulación	PMSG/hCG	En los experimentos realizados se encontró que la mejor dosis para la obtención de oocitos viables fue de 150 UI/kg de PMSG y 75 UI/kg de hCG en ratas Wistar de 10 a 15 semanas de edad.	Mukumoto/1995
Superovulación	PMSG/hCG	La dosis de 150 UI/kg de PMSG y hCG fue la mejor, debido a que en un tratamiento superovulatorio se pueden obtener un máximo de 34 oocitos viables en hembras de 7 semanas de edad.	Hirabayashi Masumi/2001
Superovulación	PMSG/hCG	La dosis de 150 UI/kg PMSG y 75 UI/kg hCG con una diferencia de 55 hrs entre la aplicación de cada hormona, realizaron este experimento en ratas de 12, 18 y 24 semanas de edad, obteniendo mejores resultados en las hembras de 12 semanas de edad. Obteniendo 84.2 oocitos por hembra, sin importar la etapa del ciclo estral en que se encontraran.	Kon/2005

Superovulación	PMSG/hCG	La dosis empleada fue de 150 UI/kg de PMSG/ y 75 UI/kg de hCG en ratas de diferentes edades (4, 8, 12, 20 y 28 semanas); obteniendo hasta 46 oocitos en ratas de 12 semanas de edad, siendo ésta la ideal.	Sotomaru Yusuke/2005
Superovulación Producción de embriones	PMSG/hCG	La dosis 30/50 UI de PMSG/hCG fue con la que se obtuvo una mejor respuesta en cuanto a superovulación y obtención de embriones de calidad.	Cornejo-Cortés M.A./2006
Superovulación	eCG/hCG	La dosis de 40 UI/rata de eCG y 40 UI/rata de hCG proporcionó mejores resultados en ratas de 12 semanas de edad, obteniendo 101 folículos maduros con una morfología normal.	Kagabu Satosi/2006

Principales Características de la Rata

Así como todos los roedores, la rata de laboratorio pertenece al orden *Rodentia*. Existen más de 2000 especies de roedores aproximadamente incluidos en 30 familias. En realidad cerca del 40% de todas las especies de mamíferos son roedores. Las ratas y ratones pertenecen a la subfamilia Muridae. El término “murine” se refiere específicamente a su talla pequeña, gestación corta; su fácil domesticación y cuidados han hecho de las ratas un animal muy popular como mascota y animal de experimentación. Todos los animales clasificados como roedores tienen un par de incisivos en cada mandíbula. Hay dos especies de ratas en la familia Muridae: *Rattus norvegicus* y *Rattus rattus*. (Sirois A, 2005)

Las ratas son animales nocturnos aunque se aclimatan rápidamente a los cambios en el medio ambiente. Son animales muy sociables e interactúan bien cuando se encuentra en pares o grupos de sus conspecíficos. Un pequeño porcentaje de las ratas, en específico los machos, pueden desarrollar tendencias agresivas al alcanzar la pubertad. De esta forma, las ratas hembras que conviven con otras hembras son más tendientes a pelear entre ellas a comparación de los machos que viven cerca. Las hembras que tienen crías son

particularmente agresivas con otras hembras. Muchas ratas son dóciles y responden bien al manejo regular y gentil. Ellas usualmente interactúan bien con sus cuidadores. Las ratas pueden ser fácilmente tratables usando una variedad de técnicas de modificación del comportamiento. Ratas neonatas que reciben un trato regular y gentil permitirán la interacción humana de buena forma. Las ratas prefieren habitar en lugares donde puedan construir madrigueras. Les gusta explorar y aun más les gusta escalar. La rata de laboratorio es albina, su alimentación es continua y comúnmente de consistencia dura para ayudarse a desgastar los incisivos, debido a que estos crecen durante todo su periodo de vida. El olfato es una de las principales vías en la interacción social entre los roedores. Las señales auditivas constituyen un canal de comunicación intra específico en los roedores, pues las vocalizaciones sirven para coordinar un amplio rango de interacciones sociales. En especies que nacen con alto grado de inmadurez como la rata y el hombre, y que ameritan una gran participación de la madre para el crecimiento de la progenie, el juego parece cumplir un fin de importancia práctica como fuente de experiencia sensorial para propiciar el desarrollo morfológico y funcional del tejido cerebral. Esta postulación aun es motivo de discusión, particularmente para el caso de funciones complejas de gran plasticidad como el aprendizaje. (Sirois A, 2005)

Duración del ciclo, duración del celo y momento de la ovulación en la rata. (Fox JG, 1984; Frale OA, 1969; Waynforth HB, 1992)

Especie	Duración Del ciclo (días)	Receptividad Sexual	Momento de la Ovulación	Gestación (días)	Edad a la Pubertad (días)
<i>Rattus rattus</i>	4-5	13 ó 15 horas	8 ó 10 horas después del comienzo del celo.	21-23	50± 10

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la eficiencia de un tratamiento superovulatorio a base de hormonas gonadotrópicas eCG (PMSG)/hCG, en ratas Wistar durante diferentes meses del año.

Objetivos particulares

1. Aplicar un tratamiento superovulatorio a base de eCG (PMSG)/hCG en ratas Wistar de 12 semanas de edad, en diferentes meses del año.
2. Comparar la eficiencia del tratamiento anterior utilizando los siguientes parámetros: a) número de hembras gestantes, b) promedio de embriones producidos por hembra y c) número total de embriones por grupo.

MATERIALES

Material Biológico

- 110 Ratas hembras adultas jóvenes de la cepa Wistar, obtenidas de la Unidad para la Producción de Animales de Laboratorio y Experimentación (UPEAL) del Centro de Investigaciones Avanzadas del IPN.
- 10 Ratas machos adultos de 14 semanas de edad de la cepa Wistar, probados como machos reproductores en la Unidad para la Producción de Animales de Laboratorio y Experimentación (UPEAL) del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN.
- Folligon: 1000 UI gonadotropina sérica (ECG), laboratorios Intervet^{MR}
- Chorulon: 5000 UI gonadotropina coriónica (HCG), laboratorios Intervet^{MR}
- Agua inyectable de PiSA

Material Misceláneo

- Cajas de acrílico para roedor con tapas de acero galvanizado, modelo “jumbo” (43cm de fondo/ 33cm de ancho / 19cm de alto)
- Bebederos para roedores (polietileno de 1000 ml de capacidad)
- Cama (Viruta) estéril
- Jeringas (desechables) para insulina ultrafinas de 1 ml
- Jeringas (desechables) de 3 ml y 5 ml
- Micropipetas de volumen variable (1/100 μ l, 1/1000 μ l)
- Puntas para micropipetas
- Tubos de fondo cónico (eppendorf) de 1500 μ l de capacidad
- Gradillas
- Desecador de Vidrio
- Éter sulfúrico técnico
- Formol neutro amortiguado
- Estuche de disección
- Charola de disección

- Recipientes de vidrio con tapa
- Guantes de látex
- Toallas absorbentes
- Algodón

METODOLOGÍA

Elaboración de alícuotas de las hormonas gonadotrópicas. Este procedimiento se realizó conforme a la metodología reportada en la literatura (Cornejo, 2005), a una temperatura de 4 °C, debido a la termolabilidad de las hormonas.

eCG (PMSG)

- 1.- Colocar 1 ml del diluyente estéril; medido previamente con micropipeta, en el frasco ampula del producto Folligon^{MR}. (Imagen 1). Resuspender la solución hasta lograr uniformidad en la mezcla.
- 2.- Extraer con una jeringa de 3 ml toda la solución y colocarla en un tubo eppendorf estéril de 1500 µl.
- 3.- Con una micropipeta de 1/100 µl previamente calibrada a 30 µl extraer la solución con la hormona y colocarla en tubos eppendorf estériles (de 1500 µl) identificados previamente (PMSG/30) de tal forma que se obtengan 30 alícuotas (Imagen 2).
- 4.- Congelar a -20 °C.



Imagen 1.- **Folligon^{MR}** presentación comercial, tomada de: http://www.intervet.cl/binaries/Folligon_tcm99-85936.jpg



Imagen 2.- **Micropipeta** utilizada para realizar alícuotas (fotografía tomada en el Laboratorio de Histología tomada durante la realización de este proyecto).

hCG

- 1.- Colocar 5 ml del solvente estéril en el frasco ampula del producto Chorulon^{MR} (Imagen 3).
- 2.- Resuspender la solución hasta lograr uniformidad en la mezcla.
- 3.- Hecho lo anterior extraer con una jeringa de 3ml la cantidad de 2ml de la solución y colocarlo en 2 tubos eppendorf estériles.
- 4.- Con una micropipeta de 1/100 μ l previamente calibrada a 50 μ l extraer la hormona y colocarla en tubos eppendorf estériles identificados previamente (hCG/50) de tal forma que se obtengan 30 alícuotas.
- 5.- Congelar a -20°C .



Imagen 3.- **Chorullon^{MR}** presentación comercial, tomada de: http://www.intervet.cl/binaries/Chorulon_tcm99-85936.jpg

Una vez elaboradas las alícuotas, se mantienen en congelación mínimo 12 hrs hasta el momento de ser utilizadas no dejando pasar un periodo mayor de 30 días momento en el cual se repetía el procedimiento.

Aplicación del Tratamiento

El trabajo se realizó en el Laboratorio L-711, laboratorio de Apoyo a Histología y Biología (Departamento de Ciencias Biológicas) de la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán de la Universidad Nacional Autónoma de México ubicada en la carretera Cuautitlán-Teoloyucan Km 2.5, Cuautitlán Izcalli, Estado de México.

Se trabajaron 110 ratas hembras Wistar de 12 semanas de edad, las cuales fueron divididas en 11 Grupos (que corresponden a 11 meses) con 10 ratas cada uno (Imagen 4).



Imagen 4.- **Ratas Cepa Wistar** utilizadas durante la realización del proyecto, fotografía tomada en el Laboratorio de histología durante la realización del proyecto.

Las ratas se adquirieron por grupos de 10 hembras de 8-9 semanas de edad y pasaron un periodo de 15 días en aclimatación en las cajas de acrílico con rejilla de acero inoxidable, cama de viruta estéril, agua y alimento, en el siguiente orden: 2 Cajas con 2 ratas hembras cada una y 2 Cajas con 3 ratas hembras cada una. El alimento se proporcionó *ad libitum* utilizando la marca comercial LabDiet (mantenimiento), el agua que se proporcionó era purificada (electropura).

Pasados 15 días de aclimatación se procedió a iniciar el tratamiento superovulatorio; el tratamiento que se aplicó fue el utilizado por Cornejo-Cortés y colaboradores (2006) y consistió en la aplicación de la hormona eCG (30 UI), seguido de una aplicación de la hormona hCG (50 UI) a las 48 horas, los detalles de la aplicación del tratamiento son:

Aplicación de la 1er hormona.- La **hormona eCG** se aplicó en lo que se consideró día 1, el horario utilizado fue entre las 7:30 y 8:00 am, se tomaron 5 alícuotas de la hormona eCG (30 UI), se descongelaron y después se colocaron en hielo (refrigerante) para mantener a 4° C (Imagen 5). Una vez descongelada la hormona se colocó en una jeringa para insulina ultra fina con capacidad de 1 ml (una jeringa por alícuota) que se mantuvo en refrigeración hasta el momento de inyectar a cada rata.



Imagen 5.- **Elaboración de alícuotas de hormonas gonadotrópicas**, fotografía tomada en el Laboratorio de Histología durante la realización de este proyecto.

Al mismo tiempo se colocó en un desecador 50 ml de éter sulfúrico, y después se colocó dentro una rata hasta que los signos mostraron estar en estado de anestesia (Imagen 6), enseguida se le dio el manejo necesario para aplicar la hormona por vía subcutánea a nivel del abdomen, después de ser inyectadas, las ratas fueron colocadas en sus respectivas cajas en donde permanecieron hasta la aplicación de la segunda hormona.

Aplicación de la 2ª hormona.-La **hormona hCG** se aplicó el día 3 del tratamiento (50 hrs después de aplicar eCG), se aplicó una dosis de 50 UI de hCG, entre las 9:30 y las 10:00 A.M. se siguieron los mismos cuidados en el manejo de la hormona y el manejo de la rata.



Imagen 6.- **Rata anestesiada**, fotografía tomada en el Laboratorio de Histología durante la realización de este proyecto.

Cruza de animales.- La crusa de animales se realizó 12 hrs después de aplicar la segunda hormona (hCG), para ello a cada hembra se le puso en contacto con un macho en donde se mantuvieron por 5 días, la crusa se realizó en condiciones de monogamia (Imagen 7). Pasado este periodo se regresó a las hembras a sus cajas en donde pasaron entre 10-16 días de gestación, esto para obtener embriones con diferentes días de edad los cuales después de ser contados, fueron donados al laboratorio de la materia de Biología del Desarrollo e Histología Veterinaria, con la finalidad de que fueran utilizados con fines didácticos (preparados permanentes).



Imagen 7.- Cajas de roedor donde se muestran las hembras que han sido colocadas con los machos, fotografía tomada en el Laboratorio de Histología durante la realización de este proyecto.

Obtención de embriones.- Para la obtención de embriones se aplicó eutanasia en las hembras gestantes, utilizando como método eutanásico la inhalación de éter sulfúrico; después se realizó una laparatomía para extraer los úteros, los cuales se fijaron en una solución de formol neutro amortiguado a temperatura ambiente (Imágenes 8, 9 y 10).

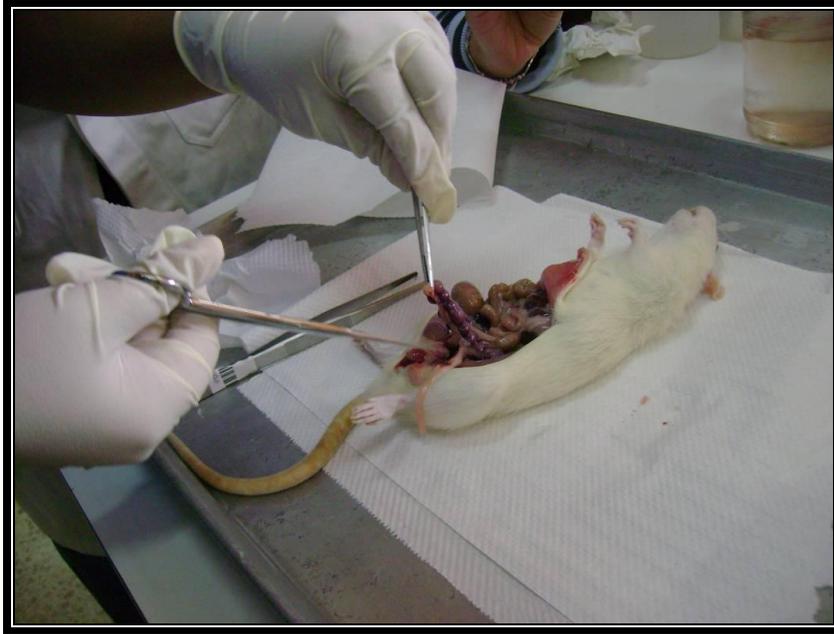


Imagen 8.- **Laparatomía realizada para extraer útero**, fotografía tomada en el Laboratorio de Histología durante la realización de este proyecto.



Imagen 9.- **Rata con laparatomía para extraer útero**, fotografía tomada en el Laboratorio de Histología durante la realización de este proyecto.



Imagen 10.- **Corte de útero con embriones de roedor**, fotografía tomada en el Laboratorio de Histología durante la realización de este proyecto.

Los animales se mantuvieron durante toda la fase experimental en las siguientes condiciones: temperatura de 13-15° C, humedad relativa de 20-30% y con fotoperiodo natural, condiciones apropiadas para el desarrollo normal de la especie (Imagen 11), según lo señalado por Burgos y Martínez, 1987.

El procedimiento antes descrito se realizó de igual forma en los diez grupos restantes.



Imagen 11.- Cajas de roedor donde se muestra el tipo de alojamiento en donde se mantuvieron a los roedores durante la fase experimental, fotografía tomada en el Laboratorio de Histología durante la realización de este proyecto.

RESULTADOS

Los tratamientos superovulatorios se aplicaron durante los siguientes meses: Diciembre del 2007; enero, febrero, marzo, abril, mayo, junio, julio, agosto, septiembre y octubre del 2008. En cuanto al número de hembras gestantes (Imagen 12) , los meses que presentaron el menor número de hembras gestantes fueron diciembre y enero con 2 hembras gestantes cada uno (20% fertilidad) mientras que el mes de Junio fue el que mayor número de hembras gestantes presentó con 6 hembras gestantes (60% fertilidad) (Imagen 12). En cuanto al número (promedio) de embriones producidos por hembra, el mes de Septiembre fue el mes más bajo con 5.7 embriones por hembra gestante en promedio y el mes más alto en cuanto a número (promedio) de embriones por hembra gestante fue el mes de Diciembre con 17.5 embriones por hembra (Imagen 13). En el número total de embriones por grupo el mes de enero fue el mes más bajo con 12 embriones por grupo mientras que Marzo y Julio fueron los meses con el número más alto de embriones por grupo. (Imagen 14).

Los resultados muestran que aunque diciembre fue el mes que presentó el número más alto de embriones (promedio) por hembra, fueron los meses de marzo y junio donde se presentó un mayor número de embriones totales por grupo.

Los resultados obtenidos se pueden apreciar en la Tabla 1

TABLA 1

Resultados de los diferentes tratamientos superovulatorios obtenidos es este proyecto

Mes	No. Animales en Tratamiento	No. Hembras Gestantes	% Fertilidad	Promedio de embriones por hembra gestante	No. Embriones (total)
Diciembre/2007	10	2	20	17.5	35
Enero/2008	10	2	20	6	12
Febrero/2008	10	3	30	6.3	19
Marzo/2008	10	5	50	13.6	68
Abril/2008	10	4	40	10.2	41
Mayo/2008	10	4	40	9.7	39
Junio/2008	10	6	60	7.1	43
Julio/2008	10	5	50	13.6	68
Agosto/2008	10	4	40	6	24
Septiembre/2008	10	4	40	5.7	23
Octubre/2008	10	4	40	9.2	37

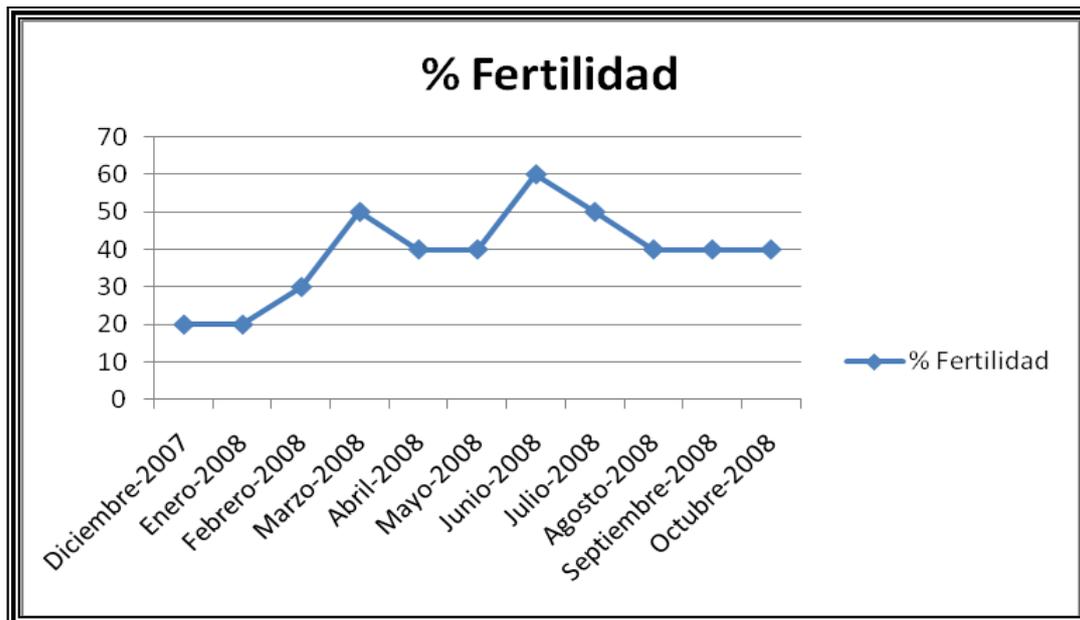


Imagen 12. Porcentajes de fertilidad en los diferentes meses del año en que se aplicaron los tratamientos. El promedio de porcentaje de fertilidad de todos los meses fue 39.09%.

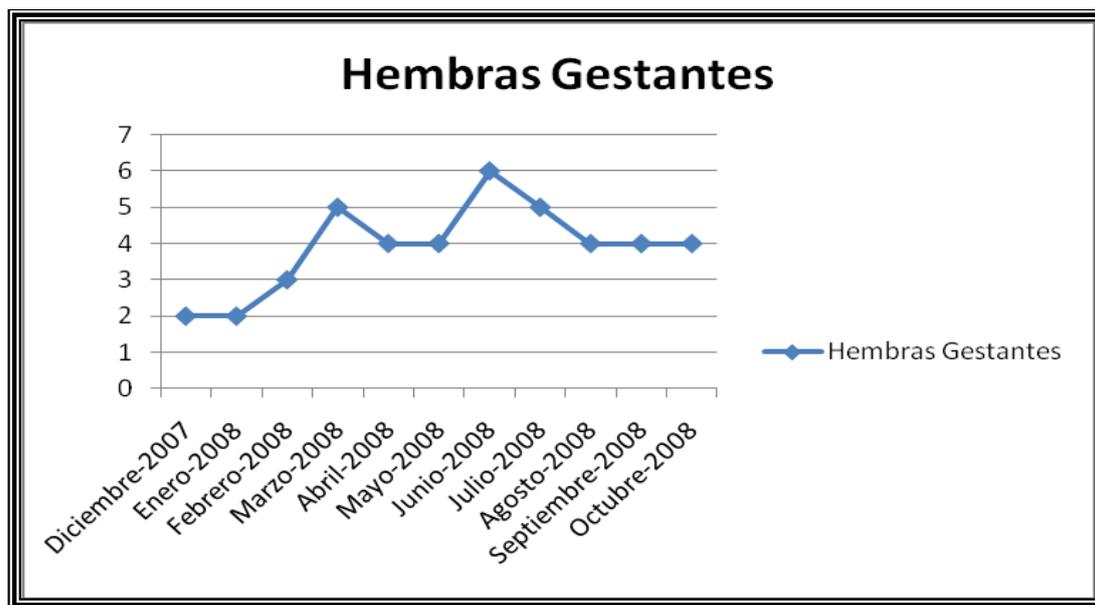


Imagen 13. Número de hembras gestantes durante los diferentes meses del año en que se aplicaron los tratamientos.

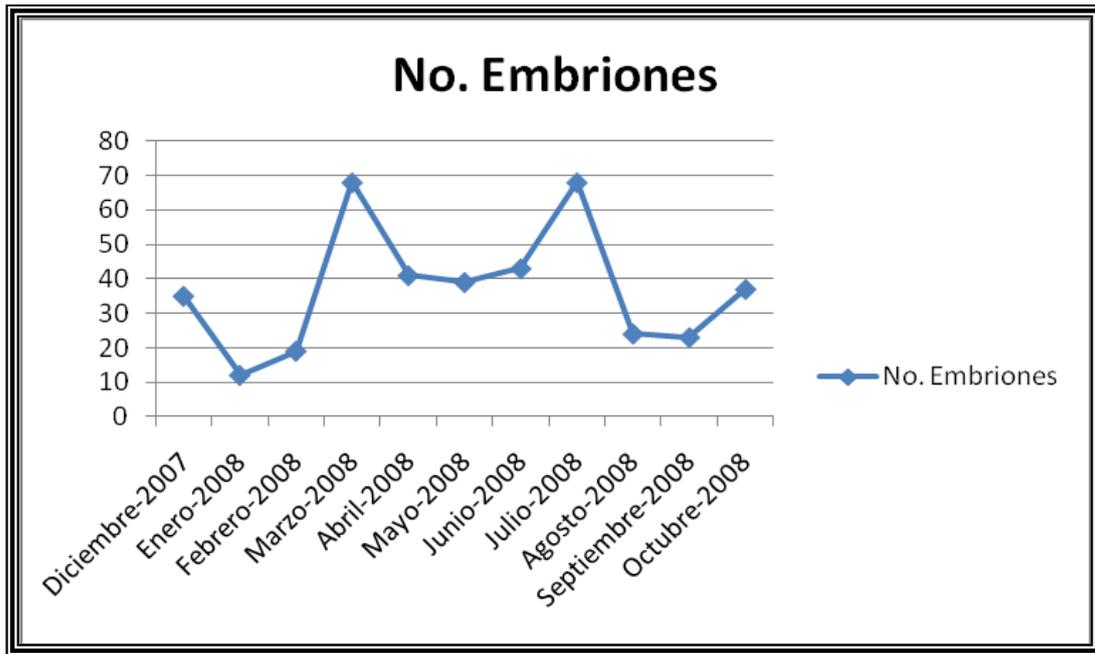


Imagen 14. Número de embriones en los diferentes meses del año en que se aplicaron los tratamientos.

DISCUSIÓN

Los estudios realizados sobre protocolos de superovulación en su mayoría se han realizado en roedores como el ratón y la rata; en este sentido las investigaciones no siempre presentan resultados idénticos o muy similares, por esta razón evaluamos la eficiencia de un tratamiento superovulatorio a base de hormonas gonadotrópicas durante los diferentes meses del año en ratas Wistar.

La cepa de elección de los animales a utilizar en esta tesis fue la cepa Wistar debido a que diferentes autores (Mukumoto y col. 1995, Gómez y col. 2004, Cornejo y col. 2006) obtuvieron mejores resultados con la cepa Wistar en tratamientos superovulatorios utilizando hormonas como la eCG y hCG; así la elección de animales se consideró con base a la literatura con la finalidad de que pudiera influir de forma positiva en el desarrollo de nuestros experimentos.

Cuando hablamos del **número de embriones por hembra gestante**, los resultados encontrados en la literatura son variados por ejemplo: Cornejo y col. (2006) obtuvieron 34.6 embriones por hembra con un tratamiento superovulatorio de 30UI de eCG y 50 UI de hCG; Kon y col. (2005) obtuvieron 49.8 embriones por hembra utilizando un tratamiento superovulatorio 150 UI de eCG y 75 UI de hCG; Goh y col. (1992) obtuvieron 29.3 embriones por hembra con un tratamiento superovulatorio de 40 UI de eCG; Young y col. (1988) ocuparon un protocolo superovulatorio de 40 UI de eCG y realizaron la recopilación de embriones a los 2, 3, 4 y 5 días de edad obteniendo un promedio de 10.2 embriones por hembra; nuestros resultados son un poco más bajos, corresponden a 9.5 embriones por hembra gestante (Tabla 1), lo cual podrá atribuirse a factores como las diferentes condiciones medioambientales en las que se encontraban los animales sometidos al tratamiento, ya que todos los autores anteriores (Cornejo y col. 2006, Kon y col. 2005, Goh y col. 1992, Young y col. 1988) mantuvieron a las ratas en condiciones controladas de: temperatura 20-23 ° C, humedad relativa 60-70 % y un fotoperiodo controlado de 12 hrs luz y 12 hrs oscuridad, condiciones que nosotros no pudimos controlar y que podrían haber ocasionado un stress de tipo calórico e hipobárico, que pudiera repercutir en nuestros resultados, situación que en algunos casos ha sido reportado por la literatura (Dobson y col. 2000, Gómez y Escobar. 2006).

Si comparamos otros resultados como el **número de ovocitos**, Mukumoto y col. (1995), utilizaron un tratamiento superovulatorio de 150 UI de eCG y 150 UI de hCG cuyo resultado fue de 56.9 ovocitos por hembra; Kagabu y col. (2006), utilizaron un tratamiento superovulatorio con 40 UI eCG y 40 UI hCG cuyo resultado fue 75.5 ovocitos por hembra; Sotomaru y col. (2005) utilizaron un tratamiento superovulatorio de 150 UI de eCG y 75 UI de hCG cuyo resultado fue 46.8 ovocitos por hembra, los resultados obtenidos por estos autores son altos en comparación con los nuestros, sin embargo no podemos comparar completamente porque nosotros obtuvimos embriones (tabla 1) mientras que ellos obtuvieron ovocitos, los cuales todavía no han sido expuestos a procesos como fertilización y reabsorción embrionaria entre otros. Además debemos considerar que también estos autores trabajaron en condiciones ambientales controladas (temperatura 20-23 ° C, humedad relativa 60 - 70 % y un fotoperiodo controlado de 12 hrs luz y 12 hrs oscuridad), situación que nosotras como ya explicamos no pudimos controlar.

Otro factor que podría considerarse para entender el porqué de la diferencia de resultados, es la vía de inoculación que se utilizó, ya que (Hirabayashi y col. 2001, Sotomaru y col. 2005, Cornejo y col. 2006) utilizaron vía intraperitoneal. Mientras que nosotros utilizamos una vía de inoculación subcutánea por cual creemos que la vía de inoculación es un factor importante ya que en los estudios de los autores antes mencionados, la vía intraperitoneal brindó mejores resultados.

En nuestros experimentos probablemente la edad no fue un factor decisivo que afectara nuestros resultados, ya que los autores antes mencionados (Cornejo y col. 2006, Kon y col. 2005, Goh y col. 1992, Mukumoto y col. 1995, Kagabu y col. 2006, y Sotomaru y col. 2005) coinciden en que la edad óptima para realizar un tratamiento superovulatorio y obtener un mayor número de embriones u ovocitos es a las 12 semanas de edad, y todas las hembras empleadas tenían 12 semanas de edad al momento de realizar los experimentos, debido a esto suponemos que el factor edad no representó un factor negativo en los resultados obtenidos.

Finalmente otro factor que debemos considerar es el stress que pudieran tener los animales ya que desafortunadamente no se tenían en condiciones de aislamiento completo y si consideramos el comportamiento normal de los roedores, podría existir la posibilidad de estrés por el constante paso de gentes en el laboratorio (Dobson y col. 2000, Gómez y col. 2004, Ramírez y col. 1992).

BIBLIOGRAFÍA

1. Hafez ESE, Hafez B. Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. Mc Graw-Hill Interamericana. 7ma ed. México, 2002.
2. Best J, Taylor M. Bases Fisiológicas de la Práctica Médica. 13a ed. Panamericana. Buenos Aires Argentina, 2003.
3. Cunningham JG. Fisiología Veterinaria. 3ra ed. Elsevier. España, 2003.
4. Koolman J, Heinrich RK. Bioquímica (Texto y Atlas). Médica Panamericana. 3ra ed. México, 2004.
5. Hill RW, Wyse GA, Anderson M. Fisiología Animal. Editorial Medica Panamericana. España, 2006.
6. Szoltys M, Galas J, Jablonka A and Tabarowski Z. 1994. Some morphological and hormonal aspects of ovulation and superovulation in the rat. *Journal of Endocrinology*; 141: 91-100.
7. Yun YW, Yuen BH AND Moon YS. 1988. Effects of an Antiandrogen, Flutamide, on Oocyte Quality and Embryo Development in Rats Superovulated with Pregnant Mare's Serum Gonadotropin. *BIOLOGY OF REPRODUCTION*; 39: 279-286.
8. Goh HH, Yang XF, Tain CF, Liew LP and Ratnam SS. 1992. Oogenesis, Fertilization and Early Embryonic Development in Rats. II: Dose-dependent Effects of Human Chorionic Gonadotrophin. PMID: 1309112.
9. Mukumoto S, Mori K and Ishikawa H. 1995. Efficient Induction of Superovulation in Adult Rats by PMSG and hCG. *Experimental Animals*; 44 (2): 111-118.
10. Hirabayashi M, Ito K, Sekimoto A, Hochi S and Ueda M. 2001. Production of Transgenic Rats Using Young Sprague-Dawley Females Treated with PMSG and hCG. *Experimental Animals*; 50 (5): 365-369.
11. Kon H, Tohei A, Hokao R, Shinoda M; 2005. Estrous Cycle Stage-Independent Treatment of PMSG and hCG can Induce Superovulation in Adults Wistar-Imamichi Rats. *Exp. Anim.*; 54(2): 185-187.
12. Sotomaru Y, Kamisako T and Hioki K. 2005. Estrous Stage- and Animal Age-Independent Superovulation in the Br/Han: WIST@Jel (GALAS) Rat. *Experimental Animals*; 54(2): 137-141.

13. Cornejo CMA, Sanchez TC, Vazquez CJC, Suarez GHM, Garrido FG and Meraz RMA. 2006. Rat embryo quality and production efficiency are dependent on gonadotrophin dose in superovulatory treatments. *Laboratory Animals*; 40: 87-95.
14. Kagabu S and Umezu M. 2006. Variation with Age in the Numbers of Ovulated Ova and Follicles of Wistar-Imamichi Adult Rats Superovulated with eCG –hCG. *Experimental Animals*; 55 (1):45-48.
15. Sirois A. *Laboratory Animal Medicine: Principles and Procedures*. Elsevier Mosby. Missouri, 2005.
16. Fox JG. *Laboratory Animal Medicine*. Academic Press Inc. U.E., 1984.
17. Frale OA. *Fisiología de la Reproducción*. Acribia. España, 1969.
18. Waynforth HB. *Experimental and Surgical Technique in the Rat*. Academic Press. California, 1992.
19. Cornejo CMA, Tesis de Doctorado en Ciencias en la Especialidad de Biomedicina Molecular, Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN; 2005.
20. http://www.intervet.cl/binaries/Folligon_tcm99-85936.jpg,
http://www.intervet.cl/binaries/Chorulon_tcm99-85936.jpg
21. Burgos FMC, Martínez FJC. *La Rata de Laboratorio Manual*. ENEP Iztacala. México. 1987.
22. Gómez GB, Escobar A. Estrés y sistema inmune. *Rev. Mex. Neuroci.* 2006; 7(1): 30-35.
23. Young W, Yun, Basil HY, Young SM; 1988. Effects of an Antiandrogen, Flutamide, on Oocyte Quality and Embryo Development in Rats Superovulated with Pregnant Mare's Serum Gonadotropin. *Biology of Reproduction.*; 39: 279-286.
24. Dobson H, Smith RF. 2000. What is stress, and how does affect reproduction?. *Animal Reproduction Science.*; 60: 743-752.
25. Ramírez ML, López PD, Suárez LL, Martens CJ. 1992. Vías metabólicas en el músculo cardiaco de ratas sometidas a estrés hipobárico. *MedULA*; 2(3): 70-75.
26. Gómez R, Lima I, Simón C and Pellicer A. 2004. Administration of low-dose LH induces ovulation and prevents vascular endothelial growth factor expresión in superovulated rats. *Reproduction Research*; 127: 483-489.

CONCLUSIONES

Con base a los resultados del presente trabajo y a la bibliografía comparada, podemos mencionar que los factores medioambientales pueden ser determinantes para algunos parámetros reproductivos como es el número de hembras gestantes y el número de embriones obtenidos por hembra.

Tomando en cuenta lo anterior, este tipo de experimentos se recomiendan realizar en condiciones medioambientales controladas de: fotoperiodo de 12 horas de luz/obscuridad, temperatura de 20 a 23^o C y humedad relativa de 40 a 70 %, lo anterior para evitar que el medio ambiente pueda ocasionar un estrés calórico e hipobárico en las ratas.

Es recomendable que los tratamientos superovulatorios aplicados en ratas para la obtención de embriones, se realicen en los meses más cálidos del año (Marzo a Octubre), lo anterior considerando que en estos meses, es cuando obtuvimos una cantidad mayor de embriones (resultados en Tabla 1).

Relacionado con el punto anterior, específicamente recomendamos aplicar los tratamientos superovulatorios en los meses de marzo y julio que es cuando se obtuvo el número más alto de embriones (Tabla 1, Imagen 12).

Es preferible que las hembras a utilizar sean de la cepa Wistar y tengan 12 semanas de edad, ya que con base a la literatura son las que han mostrado una mejor respuesta a los tratamientos superovulatorios.

Sería recomendable realizar estudios para comparar la vía de inoculación intraperitoneal y la vía de inoculación subcutánea (utilizando las mismas condiciones ambientales) para ver si la vía de inoculación pudiera ocasionar diferencias en los resultados correspondientes a número de hembras gestantes y el número de embriones obtenidos por hembra.

Finalmente en referencia a la “aplicación práctica de la presente tesis” consideramos que nuestros resultados colaboran para aumentar el conocimiento de la rata como un “Modelo Animal de Investigación”, ya que permiten asentar las bases para que estos tratamientos superovulatorios sean aplicados o utilizados en otras cepas de ratas o en otras especies animales tanto de laboratorio como productivas.