

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



Introducción de la actividad estral en ovejas utilizando dispositivos intravaginales con diferentes dosis de fluorogestona y su relación con la fertilidad

POR:

ELSA MARINA REYES JOACHIN

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL TITULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA.

TORREÓN, COAHUILA

Octubre 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL

Introducción de la actividad estral en ovejas utilizando dispositivos intravaginales con diferentes dosis de fluorogestona y su relación con la fertilidad.

Por:

ELSA MARINA REYES JOACHIN

TESIS

Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por:



Presidente
M.C. Gerardo Arellano Rodríguez



Vocal
Dra. Leticia Romana Gaytán Alemán



Óscar Ángel García
Vocal



Fernando Arellano Rodríguez
Vocal Suplente



MVZ. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México
Octubre, 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE PRODUCCION ANIMAL

Introducción de la actividad estral en ovejas utilizando dispositivos intravaginales con diferentes dosis de fluorogestona y su relación con la fertilidad.

Por:

ELSA MARINA REYES JOACHIN

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por el Comité de Asesoría:

M.C. Gerardo Arellano Rodríguez
Asesor Principal

Dra. Leticia Romana Gaytán
Coasesor

Oscar Ángel García
Coasesor

MVZ. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México
Octubre, 2019.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al gran equipo de Ciencias en Producción Agropecuaria, por la oportunidad brindada, para realizar y finalizar mi tesis, así como a todos los profesores de este programa que contribuyeron de una manera significativa para guiarme por el camino de la ciencia.

Agradezco a mi alma mater, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por aceptar ser mi máxima casa de estudios durante la licenciatura, contribuyendo en mi educación por 5 años.

Para finalizar y como el mas importante, agradezco al Doctor Oscar Garcia quien con su gran labor de enseñar me hizo participe de esta investigación también al establo “el milagro” por la oportunidad de llevar a cabo las actividades pertinentes a mi tesis en sus instalaciones y con sus animales, y por su disposición para contribuir en el crecimiento académico e incluso personal de quienes ahí laboramos en proyectos de investigación.

DEDICATORIA

A el gran amor de mi vida mi madre Elsa Joachin quien desde un principio creyó firmemente en mi, a ti abuelito que estas en el cielo toda mi admiración, a mi hermanito David que cada día me demuestras que redirse no es opción en nosotros y demás familia, quienes siempre han estado para apoyarme en el desarrollo personal y profesional.

A mis amigos, que tanto en buenos como en malos momentos han creído en lo que puedo lograr, los amo y admiro, siempre los llevaré conmigo.

Y a mis compañeros en este camino, compañeros que terminaron convirtiéndose en amigos a través del tiempo compartido en las aulas de la universidad, las practicas, viajes de excursión, congresos y demás, lo he disfrutado al máximo mismas actividades que han forjado parte del carácter en el ámbito, infinitamente gracias.

Resumen

El objetivo del presente estudio fue comparar la efectividad de de la bipartición de un progestágenos y con el finalidad de la reducción de la dosis de acetato de flurogestona (FGA) sobre la respuesta reproductiva de ovejas de la raza Dorper. Se utilizaron 40 ovejas, con un peso vivo y condición corporal (54.3 ± 2.2 kg y 3.0 ± 0.1 unidades; escala del 1-5, respectivamente), y sujetas a 4 tratamientos para sincronización del estro y la ovulación: I) mitad de una esponja (n=11) con 10 mg de FGA (FGA ~20), II) una esponja completa (n= 9): con 20 mg de FGA (FGA 20). Ambos grupos fueron tratados por 6 días, y al momento del retiro se les administraron 300 UI de eCG por vía IM. La respuesta estral en general fue de $\geq 89\%$ ($P>0,05$), y el porcentaje de ovulación fue de $\geq 80\%$ para ambos grupos ($P>0,05$). El porcentaje de preñez fue menor en el FGA20 (44%) comparado con el 64% del FGA~10, ($P>0.05$), respectivamente. En conclusión, la reducción de la dosis de FGA a corto plazo (6d) para la inducción y sincronización del estro en ovejas de la raza Dorper resultó ser un método efectivo, ya que se obtienen resultados similares con una dosis más baja.

Palabras claves: Estro, Porcentaje de preñez, Tasa ovulatoria, Fluorogestona, Dorper

INDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIA	ii
Resumen.....	iii
INDICE DE CUADROS.....	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II REVISIÓN DE LITERATURA.....	2
2. NEUROENDOCRINOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN	2
2.1. Hipotálamo e hipófisis.....	2
2.1.1. Embriogenesis y anatomía	3
2.1.2. Fisiología del lobulo anterior	7
2.1.2.1. Lobulo anterior	7
2.1.3. Gonadotropinas	13
2.2. CICLO ESTRAL EN OVINOS	15
2.2.1. Ondas de desarrollo folicular.....	16
2.2.2. Reclutamiento y dominancia folicular	16
2.3. ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA.....	16
2.4. TRATAMIENTOS HORMONALES	17
2.4.1. Progesterona y sus analogos.....	18
2.5. Literatura citada.....	20
III. Artículo	25
Sincronización de la respuesta reproductiva a través de la partición de esponjas impregnadas con FGA más eCG en Ovejas.....	25
Resumen.....	26
3.1 Introducción	27
3.2. Materiales y métodos	29
3.2.1. General	29
Hembras	30

Tratamiento de las hembras.....	30
Variables a evaluar	31
Análisis estadísticos	32
3.3. Resultados	32
3.4. Discusión.....	34
3.5. Conclusiones	36
3.6. Agradecimientos	36
3.7. Literatura citada	37

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. INTRODUCCION DE LA AVTIVIDAD ESTRAL EN OVEJAS UTILIZANDO DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES CON DIFERENTES DOSIS DE FLUOROGESTONA Y SU RELACION CON LA FERTILIDAD.....	33
--	-----------

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Embriogénesis de la glándula pituitaria.	4
Figura 2. Organización de la pituitaria e hipotálamo (Squires, 2003).	5
Figura 3. Diagrama de la glándula pituitaria humana en el plano sagital que muestra las vías neurovasculares por medio de las cuales las células nerviosas en ciertos núcleos hipotalámicos (H) controlan la salida de las hormonas hipofisarias anteriores y posteriores..	6
Figura 5. Glándula pituitaria humana.	7

I. INTRODUCCIÓN

Los protocolos utilizados para la inducción y sincronización del estro y la ovulación en ovejas están basados tradicionalmente en la inserción de esponjas intravaginales impregnadas con progestágenos (Abecia *et al.*, 2012). Las tecnologías para la sincronización de la respuesta estral y la ovulación en las ovejas están basadas principalmente en el control de la vida útil de los cuerpos lúteos a través del uso de tratamientos con prostaglandina o mediante el uso de progestágenos / progesterona más gonadotropina coriónica equina (eCG) durante un periodo de 12 a 14 días (Viñoles *et al.*, 2001; Abecia *et al.*, 2011; Martemucci y D'Alessandro, 2011). En los sistemas con tratamientos con progestágeno son bastante largos, y muchas veces no cumplen con las expectativas de los productores, en ovejas en producción de leche, los productos (leche, quesos y derivados) no pueden utilizarse durante el período de tratamiento. En efecto, se han restringido el uso de la progesterona (Europa) por restricción legislativa sobre los residuos hormonales (límites máximos de residuos, R.D. 2178/2004) en la carne y la leche (Martemucci y D'Alessandro, 2011). Por lo tanto, para disminuir las dosis administradas en esponjas intravaginales impregnadas de acetato de fluorogestona (FGA) se puede evaluar su efecto utilizando esponjas partidas y además de acortar el periodo de tratamientos con estos progestágenos (<10 d), se pueden utilizar esponjas partidas y esponjas completas, además de la combinación de estos progestágenos con eCG al momento de retiro (Ungerfeld y Rubianes, 2002).

Un método que puede resultar eficaz para la sincronización de la respuesta estral en ovejas es a través del control en la fase luteal del ciclo estral proveyendo progesterona exógena, aplicando de forma tradicional esponjas de poliuretano impregnadas de acetato de fluorogestona (FGA) (Ungerfeld y Rubianes, 2002).

II REVISIÓN DE LITERATURA

2. NEUROENDOCRINOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

2.1. *Hipotálamo e hipófisis*

Andreas Vesalius nombró a la glándula pituitaria o hipófisis cerebral, derivada de la terminología griega por su ubicación como un accesorio debajo del cerebro, de acuerdo con la creencia de Aristóteles de que la pituitaria era el órgano por el cual pasaba la flema, uno de los cuatro humores esenciales del cuerpo. desde el cerebro. Aunque estas nociones parecen ahora arcaicas, la importancia de la pituitaria solo se ha aclarado recientemente. Hasta 1909, Harvey Cushing reflexionó sobre su dispensabilidad en un tratado titulado "¿Es la glándula pituitaria esencial para el mantenimiento de la vida?". A lo largo del siglo pasado, se han logrado grandes avances en la comprensión de la fisiología de la hipófisis y su papel central en dirigir las funciones homeostáticas del cuerpo. Aunque la hipófisis adulta típicamente mide menos de 1 cm en su dimensión mayor y pesa menos de 1 g, su tamaño pequeño contrasta con su importancia y complejidad, incluida su intrincada embriología, heterogeneidad estructural y diversidad funcional. Los lóbulos anterior, intermedio y posterior de la glándula pituitaria actúan como tres órganos endocrinos separados, cada uno caracterizado por distintas poblaciones celulares, productos secretores y mecanismos reguladores (Amar y Weiss, 2003).

Se presta poca o ninguna atención a una serie de temas importantes, como el pars intermedio y el sistema neurosecretor clásico que termina en el lóbulo neural. El conocimiento actual del aparato de hipotálamo del pars distalis de los mamíferos está necesariamente limitado a unas pocas especies fácilmente disponibles. Para la gran mayoría, distribuidos en más de 900 géneros, los detalles de la fisiología reproductiva son poco conocidos y, por razones prácticas, probablemente sigan siéndolo. Solo se puede suponer que la gama de especializaciones reconocidas entre las especies conocidas es representativa. Cada uno ha contribuido de manera importante a su manera. Por lo tanto, como principal representante de los ovuladores reflejos, el conejo dio las primeras

pistas sobre la importancia del sistema nervioso central y la conexión distalis entre el hipotálamo y el par para el proceso de ovulación. El conejillo de indias dio la evidencia inicial de que los cuerpos lúteos suprimen la ovulación. La acción de bloqueo de la ovulación de ciertos fármacos en conejos y ratas proporcionó la primera evidencia clara de una oleada preovulatoria aguda de gonadotropinas en ovuladores espontáneos. El tiempo predecible de esta oleada en ratas, su dependencia del ritmo de iluminación y el fracaso de la oleada en ratas viejas condujeron a revelar la acción bifásica de la progesterona y su interacción con el estrógeno para promover la oleada. El bloqueo farmacológico o la exposición a la iluminación continua fomentó diversos estudios del aparato neural central que controla la ovulación espontánea. Las comparaciones críticas entre ratas, hámsters, cobayas, ovejas y monos, facilitadas por el radioinmunoensayo y otras técnicas modernas, han producido interpretaciones que parecen generalmente aplicables a sujetos humanos, un objetivo principal de todas las investigaciones en biología reproductiva (Neill, 2006)

2.1.1. Embriogenesis y anatomía

El desarrollo de la glándula pituitaria es muy complejo, se produce en una etapa muy temprana de la embriogénesis y está estrechamente vinculado a la del cerebro anterior. En comparación con el roedor, se sabe relativamente poco sobre el desarrollo de la pituitaria en los seres humanos. Sin embargo, parece que varios factores de transcripción implicados en el desarrollo embrionario de la pituitaria murina también parecen estar involucrados en la organogénesis de la pituitaria humana (Kelberman y Dattani, 2007).

La glándula pituitaria se origina a partir de dos partes discretas del embrión en desarrollo (figura 1): la bolsa de Rathke, una evaginación dorsal del estomodeo inmediatamente anterior a la membrana bucofaringea, y el infundíbulo, una extensión ventral del défilefalo justo caudal al quiasma óptico. Otra evaginación dorsal del estomodeo, la bolsa de Sessel, surge justo por detrás de la membrana

bucofaringea. Esta estructura contribuye a la formación de la hipófisis en vertebrados inferiores pero no en primates (Amar y Weiss, 2003).

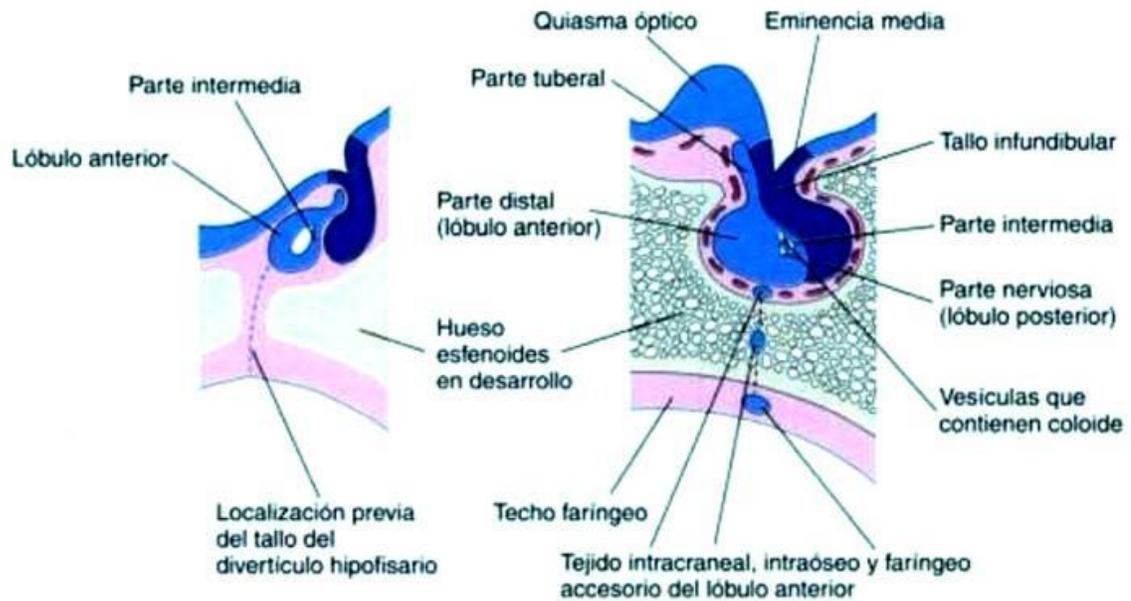


Figura 1. Embriogénesis de la glándula pituitaria.

El hipotálamo es una parte del cerebro situada debajo del tercer ventrículo por encima de la eminencia mediana. La glándula pituitaria o hipófisis se localiza debajo del hipotálamo en un bolsillo hueco del hueso esfenoides conocido como la "silla turca" y está vinculado al hipotálamo. La glándula pituitaria consta de dos lóbulos distintos, la hipófisis posterior o neurohipófisis y la hipófisis anterior o adenohipófisis. La hipófisis posterior es un tejido nervioso que se desarrolla como consecuencia del diencéfalo. Recibe hormonas que se producen en las neuronas magnocelulares en el hipotálamo y se transportan a lo largo de los axones a la hipófisis posterior. La hipófisis anterior es tejido glandular, y se subdivide en pars distalis y pars intermedia. Es la "glándula maestra", que produce varias hormonas de liberación trófica que estimulan la liberación de hormonas por parte de los tejidos diana (figura 2). (Squires, 2003).

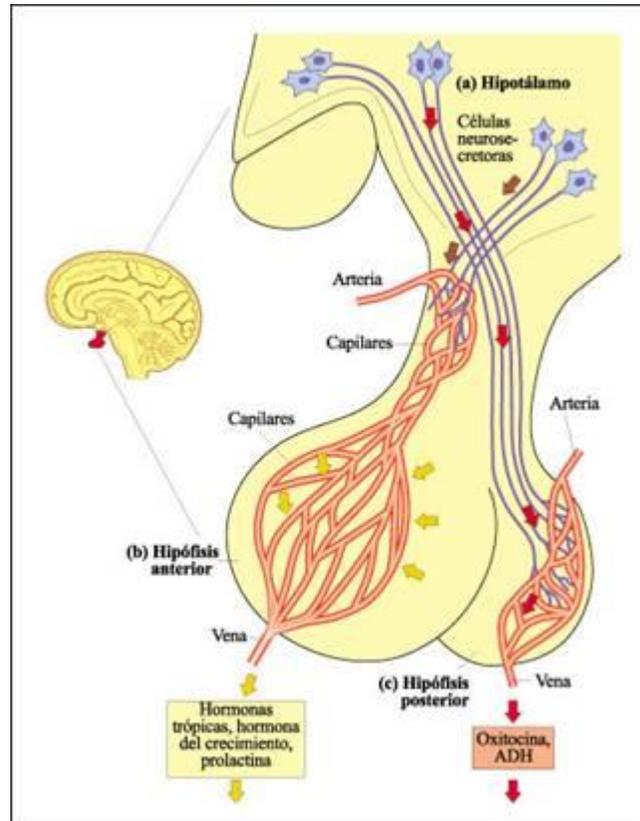


Figura 2. Organización de la pituitaria e hipotálamo (Squires, 2003).

El hipotálamo está inervado por muchas neuronas de otras partes del cuerpo y recibe señales de células como baroreceptores y osmoreceptores y otras señales ambientales. Produce hormonas liberadoras y hormonas inhibitoras de liberación, que se transmiten a la hipófisis anterior mediante el sistema portal hipotalámico-hipofisario. La liberación desde la hipófisis posterior se realiza mediante estimulación nerviosa directa, desde otras neuronas en el hipotálamo hasta las neuronas que producen las hormonas hipofisarias posteriores. La liberación de hormonas del hipotálamo y la hipófisis es pulsátil debido a la activación pulsátil de los nervios (figura 3). (Squires, 2003).

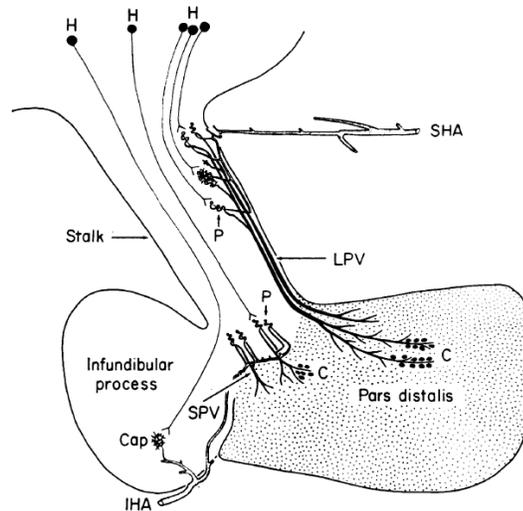


Figura 3. Diagrama de la glándula pituitaria humana en el plano sagital que muestra las vías neurovasculares por medio de las cuales las células nerviosas en ciertos núcleos hipotalámicos (H) controlan la salida de las hormonas hipofisarias anteriores y posteriores. El axón en el extremo izquierdo del lecho capilar (Cap) en el proceso infundibular representa el tracto de las células nerviosas grandes de los núcleos supraópticos y paraventriculares, que están relacionados con la función de la pituitaria posterior. Los otros axones tienen su origen en las células nerviosas en el área llamada hipofisiotrófica del hipotálamo y terminan en el lecho capilar primario (P) que alimenta los vasos portales que suministran el pars distalis. Aquí sus neurohormonas se transmiten al torrente sanguíneo y luego se transportan a través de los vasos largos y cortos del portal (LPV, SPV) a las células epiteliales (C) en un área determinada del pars distalis para controlar la salida de hormonas de estas células (Daniel, s.f.).

Los factores de liberación o los factores inhibidores de liberación producidos por neuronas específicas en el hipotálamo regulan la liberación de hormonas de la hipófisis anterior. Estos factores se producen en cantidades muy pequeñas y se transmiten desde el hipotálamo a la hipófisis anterior mediante el sistema portal hipotalámico-hipofisario (figura 4)) (Squires, 2003).

El suministro arterial se deriva de los vasos perforantes que brotan de las distintas partes del círculo de Willis y pasan a través de las sustancias perforadas

anteriores y posteriores. Además de estas pequeñas arterias, dos vasos, las arterias hipofisarias superiores, que surgen de las arterias carótidas internas, forman un anillo arterial alrededor del tubérculo. Las ramas de este anillo suministran el quiasma óptico y las partes adyacentes del hipotálamo. Muchas ramitas arteriales pequeñas del anillo pasan al tallo hipofisario (figura 5) (Daniel, s.f.).

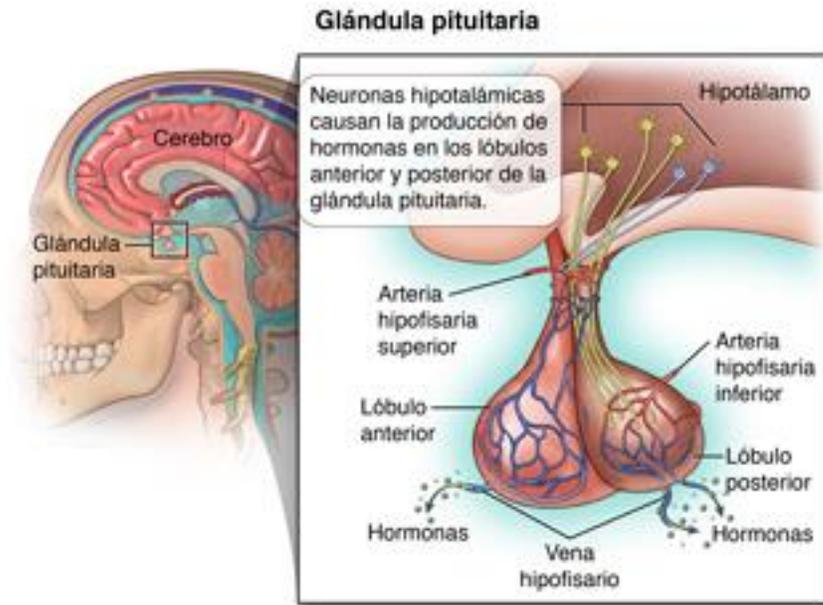


Figura 4. Glándula pituitaria humana. Diagrama en sección sagital que muestra las principales características del suministro de sangre. Tenga en cuenta que los sinusoides de pars distalis son suministrados por dos grupos de vasos portales: vasos portales largos (LP V) que drenan los bucles capilares característicos en el vástago infundibular superior (tejido neural) y los vasos portales cortos (SPV) que drenan bucles capilares similares en el vástago infundibular inferior. AT = arteria de la trabécula. IHA = arteria hipofisaria inferior. SHA = arteria hipofisaria superior. V = seno venoso (Daniel, s.f.).

2.1.2. Fisiología del lóbulo anterior

2.1.2.1. Lóbulo anterior

El lóbulo anterior está compuesto por cordones entrelazados de células poligonales grandes separadas por una extensa red de capilares sinusoidales. El citoplasma de estas células contiene gránulos de hormona almacenada que se

liberan por exocitosis. El endotelio de los capilares está fenestrado, lo que promueve la absorción de las hormonas secretadas (Amar y Weiss, 2003).

Los gránulos citoplasmáticos permiten la clasificación histológica de las células adenohipofisarias. Las designaciones tradicionales basadas en la afinidad de los gránulos a varios tintes con microscopía óptica (acidófilos, basófilos y cromóforos) han sido suplantadas por esquemas de clasificación más refinados que enfatizan la naturaleza del producto secretado. Sobre la base de técnicas modernas, como la microscopía electrónica y la inmunocitoquímica, actualmente se reconocen al menos seis poblaciones celulares. Los somatotropos, que secretan GH, son el tipo más común y constituyen del 40% al 50% de las células. Son acidófilas en preparaciones estándar de hematoxilina-eosina y por lo general se ubican en las porciones laterales del lóbulo anterior. Mammatrofos o lactotropes, que secretan PRL, representan el 10% a 25% de las células. También son acidófilas pero están dispersas por toda la glándula. Los corticotropos, que fabrican corticotropina, b-LPH y POMC, representan otro 15% a 20% de las células. Son basófilos y tienden a estar distribuidos en la parte anteromedial de la glándula. Los gonadotropos, que secretan FSH y LH, constituyen el 10% a 15% de las células de la hipófisis anterior. Se originan a partir de células teñidas de basófilos y se localizan en todo el lóbulo anterior. Los tirótrofos, que secretan TSH, representan solo del 3% al 5% de las células. Debido a su producto de glucoproteína, son basófilos y también se tiñen positivamente con la tinción con ácido de Schiff (PAS) periódica (Amar y Weiss, 2003).

A pesar de esta taxonomía, ahora se reconoce que algunas células pueden producir más de una hormona. Por ejemplo, los mammosomatotropos contienen tanto GH como PRL. Además, otra población de células que corresponde a los cromóforos de la clasificación anterior consiste en células secretoras inactivas que tienen pocos gránulos secretores. Estas células se han llamado células nulas y pueden ser los precursores de los adenomas hipofisarios no funcionales. Otros cromóforos son probablemente células foliculostellate que envían procesos entre

las células secretoras establecidas. Las células de foliculostellate contienen y secretan la citoquina interleucina-6, pero su relevancia fisiológica es incierta (Amar y Weiss, 2003).

2.1.1.2. Hormonas del lóbulo anterior

La adenohipofisis, que constituye la mayor parte del tamaño y el peso de la glándula pituitaria, produce seis hormonas establecidas: hormona estimulante de la tiroides (TSH), corticotropina, FSH, GH y PRL. Los cinco primeros sirven a funciones tropicales estimulando a otros órganos para que secreten sustancias hormonalmente activas, mientras que PRL tiene una función trófica en el tejido mamario (Amar y Weiss, 2003)

Las células celulares del lóbulo anterior también producen proopiomelanocortina (POMC), una glucoproteína precursora grande (1091-aminoácido) que experimenta escisión hidrolítica en los sitios de los aminoácidos básicos, como la arginina y la lisina, que dan como resultado la producción de numerosos derivados hormonalmente activos. El POMC también está formado por neuronas del hipotálamo y células del lóbulo intermedio, así como por la placenta, los pulmones y el tracto gastrointestinal. Estos tejidos diferentes procesan el POMC en proporciones características de los productos de la proteólisis, que incluyen la hormona estimulante de la corticotropina, α y melanocitos (α -MSH y β -MSH), el péptido del lóbulo intermedio tipo corticotropina (CLIP), LPH), β -lipotropina (β -LPH) y β -endorfina. Las funciones fisiológicas de muchos de estos péptidos en la neurotransmisión, el aprendizaje, el dolor, la endocrinología pre y postnatal, los trastornos mentales y la neoplasia se están estableciendo hasta ahora. Además de la corticotropina, uno de los principales productos del lóbulo anterior es β -LPH, un polipéptido lineal que contiene 91 residuos de aminoácidos. Aunque contiene las secuencias de endorfinas y encefalinas, pequeños péptidos que se unen a los receptores de opiáceos, la importancia fisiológica de la β -LPH es incierta (Amar y Weiss, 2003).

La corticotropina, la PRL y la GH son polipéptidos simples, mientras que la LH, la FSH y la TSH son glicoproteínas. Las glicoproteínas consisten en un heterodímero de dos subunidades, designadas a y b. Las subunidades tienen alguna actividad de forma independiente, pero deben combinarse para lograr efectos máximos. Las subunidades a de todas estas hormonas son productos de un solo gen en el cromosoma 6 y tienen la misma composición de aminoácidos, aunque los residuos de carbohidratos varían. A la inversa, las subunidades B son producidas por diferentes genes y varían en estructura, lo que confiere especificidad de acción hormonal. Se han descrito células que solo secretan la subunidad a, especialmente en el contexto de algunos adenomas hipofisarios no funcionales. Los niveles séricos de las hormonas hipofisarias anteriores, así como las de la subunidad a, ahora se pueden medir fácilmente mediante radioinmunoensayo. El modelado matemático de los perfiles de plasma de estas hormonas sugiere que la secreción tónica es despreciable. En cambio, la secreción ocurre de forma episódica, provocada por impulsos de factores reguladores hipotalámicos. Cada ráfaga de secreción dura solo unos pocos minutos, pero la frecuencia de las ráfagas junto con el aclaramiento metabólico relativamente lento produce una mayor duración de los picos de plasma (p. Ej., 90 a 140 minutos) en respuesta a estímulos fisiológicos específicos (Amar y Weiss, 2003).

2.1.2.3. Corticotropina

La acción de la corticotropina sobre la glándula suprarrenal es necesaria para la secreción basal de glucocorticoides y aldosterona, así como para el aumento de la secreción de estas hormonas provocada por diversos tipos de estrés. La hipofisectomía conduce a una rápida atrofia de la corteza suprarrenal. La acción de la corticotropina sobre la glándula suprarrenal es necesaria para la secreción basal de glucocorticoides y aldosterona, así como para el aumento de la secreción de estas hormonas provocada por diversos tipos de estrés. La hipofisectomía conduce a una rápida atrofia de la corteza suprarrenal. La secreción de corticotropina es estimulada por la hormona liberadora de

corticotropina (CRH), que se produce en la parte medial de los núcleos paraventriculares. Los axones de estas células se proyectan a la eminencia media, donde su producto se secreta en el plexo primario y se transmite a la adenohipófisis a través del sistema portal. La lesión física, el estrés emocional, la hemorragia y otros problemas fisiológicos producen impulsos aferentes que convergen en los núcleos paraventriculares, lo que lleva a un aumento de la producción de CRH y corticotropina. A la inversa, los propios glucocorticoides bloquean la secreción de corticotropina a través de la inhibición por retroalimentación ejercida en los niveles hipotalámicos y pituitarios (Amar y Weiss, 2003).

2.1.2.4. Hormona tiroide estimulante

La molécula de TSH es una glicoproteína que contiene 211 aminoácidos. Consiste en dos subunidades que están enlazadas de manera no covalente. Su vida media biológica es de aproximadamente 60 minutos. La secreción de TSH es pulsátil, con una producción máxima alrededor de la medianoche. La secreción de TSH es estimulada por la TRH, un tripéptido que se produce en la parte medial de los núcleos paraventriculares. La somatostatina, producida en los núcleos periventriculares del hipotálamo, inhibe su liberación. Los axones de estas células se proyectan a la eminencia media, donde sus productos se secretan en el plexo primario y se transmiten a la adenohipófisis a través del sistema portal. La exposición al frío aumenta la TRH. T3 y T4 actúan en los niveles hipotalámicos e hipofisarios para bloquear la secreción de TSH a través de la inhibición por retroalimentación. El mantenimiento diario de la secreción tiroidea depende de esta interacción de las hormonas tiroideas con TSH y TRH.

2.1.2.5. Hormona folículo estimulante y luteinizante

Las gonadotropinas LH y FSH estimulan las gónadas de ambos sexos y son necesarias para la producción de células germinales (gametogénesis), así como para la secreción de andrógenos y estrógenos por esos tejidos. También son necesarios para los ciclos ovulatorios de las mujeres. La semivida de LH (60

minutos) y FSH (170 minutos) se ve aumentada por el resto de carbohidratos de la glucoproteína de la subunidad b. Los efectos de LH y FSH están mediados por la actividad de la adenilil ciclasa, que se acopla a sus receptores a través de una proteína de unión a GTP. La secreción de LH y FSH es estimulada por la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), un decapeptido que se produce principalmente en el área preóptica medial del hipotálamo. Los axones de estas células se proyectan a la eminencia media, donde su producto se secreta en el plexo primario y se transmite a la adenohipófisis a través del sistema portal. La secreción de LH y FSH está bajo complejos mecanismos de retroalimentación positiva y negativa que interactúan con GnRH. Parece que la secreción de GnRH, sin embargo, debe ser pulsátil para lograr una función reproductiva y endocrina adecuada. Además, la regulación conlleva variaciones diurnas y patrones apropiados para diferentes etapas de la vida. La inhibina, un polipéptido hecho por las gónadas de ambos sexos, inhibe la secreción de FSH.

2.1.2.6. Hormona del crecimiento

De todas las hormonas producidas por la hipófisis, la GH es la más abundante. La glándula pituitaria contiene una cantidad de GH que es de 20 a 40 veces mayor que la de la corticotropina y de 50 a 100 veces mayor que la de la PRL. La GH existe en varias formas en el cuerpo, todas codificadas por un grupo de genes en el cromosoma 17. La glándula pituitaria normalmente secreta un producto con un peso molecular de 22,000. Una forma más pequeña producida por el empalme de ARNm alternativo también es biológicamente activa y representa el 10% de la GH circulante. Aproximadamente la mitad de la GH en el plasma está unida a una proteína que consiste en un producto de escisión del receptor de GH. Esto proporciona un reservorio que compensa las amplias fluctuaciones en la tasa de secreción y la corta vida media (6–20 minutos) de GH. El receptor de GH consiste en una proteína transmembrana con un gran dominio extracelular. La unión de la GH conduce a la homodimerización del receptor, que luego activa varias cascadas de segundo mensajero. Además de la activación directa de varios genes, la GH conduce a la producción de somatomedinas, un grupo de factores de crecimiento de polipéptidos secretados por el hígado,

cartílago y otros tejidos. Las somatomedinas mejor caracterizadas, el factor de crecimiento tipo insulina I (IGF-I, también conocido como somatomedina c) e IGF-II, parecen mediar muchas de las acciones de la GH. La concentración plasmática de IGF-I alcanza su punto máximo en la pubertad y disminuye a niveles bajos en la vejez. IGF-II desempeña un papel en el crecimiento del feto antes del nacimiento, pero en adultos, su gen solo se expresa en el plexo coroideo y en las meninges (Amar y Weiss, 2003).

El ciclo estral de la cabra tiene duración de 21 días (rango 19-23 días) y se divide en una fase luteal que se extiende desde el día 2 (estro=día 0) hasta aproximadamente el día 16 y una fase folicular desde el día 17 hasta el día 1. Por su parte el estro tiene una duración de 36 h (rango 18-48 hs), la ovulación ocurre antes de finalizar el estro (Amar y Weiss, 2003).

2.1.3. Gonadotropinas

Las gonadotropinas, FSH y LH, pertenecen a una familia de hormonas glicoproteínicas junto con la gonadotropina coriónica placentaria humana (hCG) y la TSH. FSH y LH se sintetizan en la hipófisis anterior y comparten características químicas y estructurales similares. Ambas hormonas son reguladores clave de la reproducción y actúan de manera endocrina para regular la esteroidogénesis y la gametogénesis en el ovario y el testículo. Las acciones de FSH y LH en células de granulosa y teca se han caracterizado bien y son esenciales para el desarrollo folicular (Choi *et al.*, 2007).

2.1.3.1. Gonadotropinas: química y biosíntesis

La hormona luteinizante (LH) y la hormona estimulante del folículo (FSH) son hormonas glicoproteínas hipofisarias que regulan la función gonadal, incluida la producción de hormonas esteroideas sexuales, la maduración de los folículos ováricos en la mujer y el desarrollo de espermatoцитos en el hombre. Estas hormonas (gonadotropinas) son esenciales para el crecimiento, desarrollo y reproducción normales. Cada hormona es un dímero compuesto por dos subunidades diferentes que contienen carbohidratos, denominadas alfa y beta, que se unen de manera no covalente. La subunidad α es idéntica entre las hormonas glicoproteínas de la misma especie, mientras que las subunidades β

son sustancialmente diferentes para cada hormona y, como tal, especifican la actividad biológica. Las subunidades de gonadotropina están codificadas por genes separados (un solo gen α y un gen separado de la subunidad β) que se ubican en cromosomas separados. La transcripción de los genes de las subunidades α , LH β y FSH β de rata da como resultado ARNm maduros de aproximadamente 800.700. y 1.700 nucleótidos que codifican los precursores de las subunidades α , LH β y FSH β , respectivamente. Se ha demostrado que algunos factores que influyen en la liberación de gonadotropinas como la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), los esteroides gonadales, la inhibina, la activina, la folistatina también tienen una influencia reguladora en la síntesis de LH / FSH. El progreso reciente en biología molecular indica que la regulación de la síntesis de gonadotropina ocurre a nivel de la expresión génica (Kochman y Gajewska, 1996).

Factores reguladores distintos de la GnRH y los esteroides también participan en la modulación directa o indirecta de la expresión del gen de la gonadotropina hipofisaria. Se informó que las hormonas tiroideas pueden aumentar o disminuir los niveles hipofisarios de los ARNm de las subunidades LHP y FSHP en ratas hembras y esos efectos dependían de la dosis de triyodotironina o tiroxina inyectada, así como de la presencia o ausencia de gónadas en la rata. . También se demostró que péptidos como la inhibina, la activina y la folistatina son potentes reguladores de la expresión del gen FSH β . Los estudios sobre síntesis y secreción de FSH en ovejas han demostrado un equilibrio entre la influencia estimulante de la GnRH y la activina y los efectos inhibitorios del estradiol y la inhibina en esos procesos. Actuar directamente a nivel de la pituitaria, tanto la inhibina como el estradiol han provocado una disminución de la expresión del gen de la subunidad FSHP al reducir, así como la tasa de transcripción y la estabilidad del ARNm en el citoplasma. También la activina ejerce una influencia importante en la síntesis y liberación de gonadotropinas. Se observó que las inyecciones subcutáneas de activina A recombinante en ratas macho dieron como resultado un aumento del 60% tanto en la liberación como en la síntesis de FSH. Cuando se administró activina a ratas hembras ovariectomizadas, tratadas con estradiol, se observó la expresión del gen de la FSH aumentada 2,5 veces en sus pituitarias

después de 5 h. Cuando se inyectó GnRH en el tercer ventrículo de proestus hembra, estimuló la biosíntesis del ARNm para la subunidad α (46%) y LH β (56%), mientras que en el estro esta estimulación fue del 48% y 6496, respectivamente. Estos resultados apoyan la concepción de que la acción primaria de la GnRH se produce a través de su efecto estimulante sobre la biosíntesis de gonadotropinas; sin embargo, no se puede excluir la influencia de la acción de la GnRH sobre la glicosilación de las subunidades de gonadotropinas. Además, examinamos la influencia de las infusiones de naloxona y β -endorfina en la síntesis de subunidades de ARNm de gonadotropina. La β -endorfina inhibió significativamente el ARNm para LHP (-57%) y la subunidad α (-26%). Pero la naloxona no mostró ningún efecto sobre la formación de ARNm en la pituitaria de las gonadotropinas. Tal efecto inhibitorio de la β -endorfina en la síntesis de gonadotropinas de ARNm (así como en su liberación) puede atribuirse a su efecto inhibitorio sobre la liberación de GnRH a nivel de hipotálamo. Por otro lado, la falta de la estimulación evidente de la síntesis de ARNm de gonadotropinas observada después de las infusiones de naloxona puede ser un resultado del bajo nivel de β -endorfina endógena en el hipotálamo en ratas ovariectomizadas. Domanski *et al.* (1991) informaron que el contenido de β -endorfina en el hipotálamo de la oveja es muy bajo durante el período de liberación de GnRH. Además, Van Vugt *et al.* (1982) describieron el aumento de la secreción de LH después de la gonadectomía como consecuencia de la disminución de la acción inhibitoria de los opioides después de la eliminación de las gónadas (Kochman y Gajewska, 1996).

2.2. CICLO ESTRAL EN OVINOS

El patrón reproductivo estacional característico de estos pequeños rumiantes está influenciado por cambios ambientales, con el objetivo de que las pariciones ocurran en una época favorable para la supervivencia de las crías. En áreas de clima templado como la nuestra, la época más favorable generalmente es la primavera, por lo que estas especies se reproducen unos 5 meses antes (duración de la gestación) para garantizar la parición en esta estación (Forsberg 1992).

2.2.1. Ondas de desarrollo folicular

Una onda folicular está definida como la emergencia de un grupo de folículos antrales pequeños (3 mm) de los que generalmente uno o dos folículos alcanzan un diámetro ≥ 5 mm. Según los diferentes autores el número de ondas foliculares por ciclo es bastante variable ocurriendo entre 2 y 5 ondas en ovejas y cabras. No obstante, de manera esquemática se puede indicar que ocurren con mayor frecuencia 3 ondas durante un ciclo en la oveja (Leyva *et al.*, 1998; Gibbons *et al.*, 1999; Evans *et al.*, 2000; Viñoles *et al.*, 2000) y 4 ondas en la cabra (Ginther & Kot, 1994; de Castro *et al.*, 1999; Schwarz & Wierzchos, 2000; Menchaca & Rubianes, 2002). El intervalo entre ondas es el período entre la emergencia (3 mm de diámetro) del folículo mayor de dos ondas consecutivas y presenta un rango de 4 a 7 días en ambas especies. El día de emergencia para cada onda es altamente variable en ambas especies ya que está asociado al número de ondas por cada ciclo.

2.2.2. Reclutamiento y dominancia folicular

El patrón de desarrollo folicular en ondas incorpora los conceptos de reclutamiento y dominancia descritos originalmente en bovinos y luego demostrados en ovejas y cabras. Cada onda folicular está precedida de un incremento en las concentraciones de FSH que promueven el crecimiento sincrónico de varios folículos pequeños, dando así origen al reclutamiento y a la emergencia de una nueva onda folicular. Este fenómeno ha sido demostrado claramente en la oveja (Gibbons *et al.*, 1999; Evans *et al.*, 2002; Viñoles *et al.*, 2002), como en la vaca, mientras que en la cabra si bien existe un reclutamiento de folículos pequeños al inicio de cada onda folicular, no existen trabajos que demuestren una asociación entre la concentración de FSH y este evento.

2.3. ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA

La estacionalidad de la reproducción, como parte del proceso de selección natural, es un mecanismo de adaptación desarrollado por algunos mamíferos silvestres como estrategia para minimizar el impacto negativo del ambiente

(temperatura, humedad y disponibilidad de alimento) en la supervivencia de las crías (Arroyo, 2011). Los ovinos traducen la señal luminosa a una señal hormonal a través de la melatonina, que se sintetiza durante la noche en la glándula pineal e indica al animal los cambios en el ciclo luz-oscuridad, inhibe la actividad ovulatoria estral, la conducta de estro y la ovulación (anestro estacional). Durante la época reproductiva, la progesterona (P4) regula los ciclos estrales de la oveja inhibiendo la secreción pulsátil de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) a nivel del área preóptica del hipotálamo, donde ejerce su acción de manera indirecta, posiblemente a través del ácido gama amino butírico (GABA) y los péptidos opioides endógenos. En la fase folicular del ciclo estral, el estradiol ejerce un efecto de retroalimentación positiva a nivel del hipotálamo mediobasal, incrementa la secreción pulsátil de GnRH y de la hormona luteinizante (LH), e induce el pico preovulatorio de ambas hormonas, provocando la conducta de estro y la ovulación (Arroyo *et al.*, 2006). Existen varios factores que regulan la estacionalidad reproductiva de las hembras, estas podrían ser extrínsecas (como el clima y la disponibilidad del alimento) e intrínsecas (asociadas con el tamaño corporal final, la duración de diferentes eventos reproductivos y la longevidad del individuo). Estos factores determinan que los animales desarrollen estrategias estacionales para su reproducción. Dichas estrategias están a su vez reguladas por una compleja interacción de factores físicos como el fotoperiodo, temperatura, precipitación pluvial. (Chemineau *et al.*, 1992).

2.4. TRATAMIENTOS HORMONALES

La inducción del estro y de la ovulación en ovejas consiste en el uso de métodos farmacológicos efectivos y fácilmente aplicables, que permiten manipular la fisiología reproductiva de las hembras ovinas, permitiendo la implementación de programas reproductivos que permiten optimizar la producción y reproducción (Córdova *et al.*, 1999). La sincronización del estro y de la ovulación en hembras ovinas no depende solo del control en la fase luteal del ciclo estral, sino también del desenvolvimiento ovárico durante la fase folicular, dado que el crecimiento folicular es independiente de la fase del ciclo estral (Uribe-Velásquez *et al.*, 2008)

Cuando el estro es sincronizado, uno de los factores más importantes que limitan los porcentajes de gestación es el apareamiento de las hembras fuera de la estación reproductiva; su repercusión se refleja en la libido de los machos, así como en la cantidad y calidad de la producción seminal, debido al daño que sufren los espermatozoides durante el transporte a través del cérvix, causado por el uso de esponjas intravaginales con progestágenos para sincronizar el estro. Recientemente se ha indicado que los esteroides, a través de los componentes hormonales del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, son capaces de alterar la interacción entre GnRH y síntesis de estradiol, cuya elevación está directamente relacionada con la oleada preovulatoria de LH y la ovulación (Cordova *et al.*, 2008).

Por ejemplo, en ovejas y cabras que presentan una estacionalidad reproductiva, la actividad sexual puede ser estimulada y sincronizada durante los periodos de anestro utilizando hormonas exógenas (progestágenos, eCG (Antes PMSG), melatonina, entre otros.) Sin embargo, estas técnicas son caras, y en ocasiones se dificulta su aplicación en los hatos mantenidos en condiciones extensivas, como los que existen generalmente en las zonas subtropicales (Carrillo *et al.*, 2010).

2.4.1. Progesterona y sus analogos

La progesterona es un esteride endogeno que es producido principalmente por un cuerpo luteo (CL) y es importante para preparar al endometrio para la implantación en un ciclo estral normal. La progesterona es también esencial como un inmunomodilador en mamíferos (Zhang *et al.*, 2017). La influencia de la P4 es importante para el sistema reproductivo donde ejerce una retroalimentación negativa en el eje hipotalámico-hipofisiario-ovárico disminuyendo la frecuencia y aumentando la amplitud de los pulsos de hormona luteinizante (LH), suprimiendo el crecimiento folicular y bloqueando la ovulación (Bosco *et al.*, 2002).

Existen varias marcas de dispositivos en el mercado con diferentes progestágenos, siendo la fluorogestona (FGA) en dosis de 60 y 30-40 mg respectivamente los análogos más utilizados. Se han utilizado esponjas

intravaginales impregnadas con progesterona (P4) mantenidas durante 12 a 14 d en conjunto con gonadotropina coriónica equina al momento del retiro del dispositivo, estos tratamientos han dado buenos resultados en cuanto a gestación durante la época reproductiva y no reproductiva (Olivera-Muzante *et al.*, 2019). El uso de esponjas presenta inconvenientes menores de manejo como un cierto porcentaje de pérdida de las mismas (normalmente no superior al 2-3%), adherencias de la esponja a la pared de la vagina y dificultad para su retiro (más frecuente en hembras nulíparas), vaginitis o flujo maloliente. El uso de dispositivos conteniendo norgestomet o progesterona natural ha sido también difundido en ovinos y caprinos lográndose con todas ellas respuestas aceptables (Ungerfeld y Rubianes, 2002; Romano, 2004; Motlomelo *et al.*, 2004; Freitas *et al.*, 1997). En la actualidad es de particular interés la sustitución de las esponjas con progestágenos por dispositivos de silicona con progesterona (por ej. CIDR-G), al ser estos más evolucionados en su proceso de elaboración, permitir una más fácil colocación y retiro, y a su vez dar lugar a la posible reutilización de los mismos.

Los tratamientos tradicionales se han aplicado por períodos de exposición a la progesterona prolongados, en un principio atribuido a la necesidad de simular la vida media del cuerpo lúteo, es decir entre 14-15 días en ovejas y 17-19 días en cabras. Posteriormente, la duración del tratamiento en caprinos fue reducida a 11-12 días asociándolo a una dosis de PGF2 previo al retiro del dispositivo (Corteel *et al.*, 1988). La exposición a la progesterona por sí sola induce una muy pobre respuesta estral durante el anestro estacional por lo que es necesario asociarla con tratamientos gonadotróficos al momento o poco antes de retirar el dispositivo. La hormona más utilizada es la gonadotropina coriónica equina (ecg o PMSG) en dosis que varía entre 200 a 500 UI, dependiendo de la raza, edad y peso de los animales. El uso de progestágenos durante el período de anestro induce una forma de distro que produce el desarrollo de folículos ováricos normales. Al remover el progestágeno, los folículos pueden ovular durante la estación en que la reproducción fracasa a causa de la retroalimentación

negativa hormonal estacional, por ello es necesario que una gonadotropina estimule la madurez folicular total y la ovulación. (Cordova *et al.*, 2008).

En un estudio realizado en cabras negras de las montañas para determinar el efecto de dos tratamientos con dispositivo intravaginal utilizando el día -12 (CGPE y CGP) con 300 mg y el día 5 utilizo 0 mg de progesterona respectivamente y el día -6 utilizo 100 µg de GnRH y 6 días después 15 mg de PGF2α, y el día 0 300 UI de PMSG. Estos autores concluyen que la utilización de progesterona y PMSG mas GnRH-PGF2α elevan las tasas de preñes y prolificidad de partos en cabras en anestro (Husein *et al.*, 2005).

Por ejemplo Menchaca *et al.*, 2007 comparo dos tratamientos protocolo día 0 y protocolo tradicional para determinar la respuesta ovárica superestimuladora los cuales consistieron en: Protocolo día 0 se utilizó un pre tratamiento con un dispositivo intravaginal (progesterona 0.3 g) durante 5 días, posteriormente se inyectó 200 UI de PMSG mas GnRH, a las 36 horas de retirar el dispositivo se aplicó 8.8mg de FSH y 160µg (delprostenate) análogo de PGF2α; y por último una dosis de 8.4µg de GnRH, mientras que en el segundo protocolo tradicional consistió en 11 días de tratamiento con progesterona mas FSH iniciando 2 días antes del final del tratamiento con progesterona; concluyendo que el primero (Protocolo día 0) resulto eficaz al mejorar la respuesta ovárica y aumentar la tasa de ovulación y mejorar un rendimiento embrionario en cabras.

2.5. Literatura citada

Amar, A. P. y M. H. Weiss (2003). Pituitary anatomy and physiology. *Neurosurg*

Clin N Am. 13: 11-23.

Arroyo Ledezma, J., Gallegos-Sánchez, J., Villa Godoy, A., & Valencia Méndez,

J. (2006). Sistemas neurales de retroalimentación durante el ciclo reproductivo anual de la oveja: Una revisión. *Interciencia*, 31(1), 8-15.

- Arroyo, J. (2011). Estacionalidad reproductiva de la oveja en México. *Tropical and subtropical agroecosystems*, 14(3), 829-845.
- Bernichtein, S., P. Touraine y V. Goffin (2010). New concepts in prolactin biology. *Journal of Endocrinology*. 206: 1-11.
- Boscós, C.M.; Samartzi, F.C.; Dellis, S.; *et al.* Use of progestagengonadotrophin treatments in estrus synchronization of sheep. *Theriogenology*, v.58, p.1261-1272, 2002. *Veterinaria y Zootecnia* ISSN 2011-5415 Vol 6 No.2, julio - diciembre de 2012
- Brooks, C. L. (2012). Molecular Mechanisms of Prolactin and Its Receptor. *Endocrine Reviews*. 33(4): 504–525.
- Carrillo E., C.A. Meza-Herrera., F.G. Véliz., 2010. Estacionalidad reproductiva de los machos cabríos de la raza Alpino-Francés adaptados al subtrópico Mexicano. *Rev.Mex. Cienc.Pecu.* 2: 169-178.
- Chemineau P, Daveau A, Maurice F, Delgadillo JA.1992. Seasonality of estrus and ovulation is not modified by subjecting female Alpine goats to a tropical photoperiod. *Small Rum Res*, 299-312
- Choi, J. H., A. S. T. Wong, H. F. Huang y P. C. K. Leung (2007). Gonadotropins and Ovarian Cancer. *Endocrine Reviews*. 28(4): 440-461.
- Córdova A, M.Córdova., J.E Guerra., 2008. Procedimiento para aumentar el potencial reproductivo en ovejas, *Rev. vet.* 19: 1, 67–79.
- Córdova, A.; Lang, G.; Oaxaca, J.; *et al.* Induction and synchronization of heat in creole ewes seasonal anestrus with impregnated vaginal sponge impregnated in FGA and injectable PMSG. *Archivos de Zootecnia*, v.48, p.437-440, 1999.

- Corteel JM, Lebouef B, Baril G. 1988. Artificial breeding of adults goats and kids induced with hormones to ovulate outside the breeding season. *Small Rum Res* 1:19-35.
- Daniel, P. M. (s.f.). Anatomy of the hypothalamus and pituitary gland. *J Clin Path (Ass Clin Path)*. 30(7): 1-7.
- de Castro T, Rubianes E, Menchaca A, Rivero A. 1999. Ovarian dynamics, serum estradiol and progesterone concentrations during the interovulatory interval in goats. *Theriogenology* 52:399-411.
- Evans ACO, Duffy P, Hynes N, Boland MP. 2000. Waves of follicle development during the estrous cycle in the sheep. *Theriogenology* 53:699-715.
- Freitas, VJF, Baril, G, Saumande, J, 1997. Oestrous synchronisation in goats: use of fluorogestone acetate vaginal sponges or norgestomet ear implants. *Anim. Reprod. Sci.* 46:237–244.
- Gibbons, J.R., Kot, K., Wiltbank, M.C. and Ginther, O.J. 1996. Influence of the booroolla FECb allele on follicular dynamics. *Theriogenology* 45:252 (abstract).
- Ginther OJ, Kot K, Wiltbank MC. 1995. Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. *Theriogenology* 43:689-703.
- Husein M.Q., M.M. Ababneh.,S.G. Haddad., 2005. The effects of progeterone priming in reproductive performance of GnRH-PGF2 α -treated anestrous goats. *Reprod.Nutr.Dev.* 45: 689-698.

- Ignacak, A., M. Kastelnik, T. Sliwa, R. A. Korbut, K. Rajda y T. J. Guzik (2012). Prolactin - Not only lactotrophin a "new" view of the "old" hormone. *Journal of physiology and pharmacology*. 63(5): 435-443.
- Kelberman, D. y M. T. Dattani (2007). Hypothalamic and pituitary development: novel insights into the aetiology. *European Journal of Endocrinology*. 157.
- Kochman, K. y A. Gajewska (1996). Biosynthesis of gonadotropins in vivo. *Acta Neurobiol Exp*. 56: 753-756.
- Leyva V, Buckrell BC, Walton JS (1999). Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. *Theriogenology* 50:395-416.
- Menchaca A, Rubianes E. 2002. Relation between progesterone concentrations during the early luteal phase and follicular dynamics in goats. *Theriogenology* 57: 1411-1419
- Menchaca A., E. Rubianes., 2007. Pregnancy Rate Obtained with Short-term Protocol for Timed Artificial Insemination in Goats. *Reprod Dom Anim*. 42: 590–593
- Motlomelo, KC, Greyling JPC, Schwalbach LMJ, 2004. Synchronisation of oestrus in goats: the use of different progestagen treatments. *Small Rum Res*; 45:45-49.
- Neill, J. D. (2006). *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*. Third Edition St. Louis, MO, Academic Press.
- Olivera-Muzante, J., Fierro, S., Alabart, J. L., Claramunt, M., Minteguiaga, M. A., Aunchayna, G., ... & Banchemo, G. (2019). Short-term dietary protein supplementation improves reproductive performance of estrous-

- synchronized ewes when there are long intervals of prostaglandin or progesterone-based treatments for timed AI. *Animal Reproduction Science*.
- Romano JE, 2004. Synchronization of estrus using CIDR, FGA or MAP intravaginal pessaries during the breeding season in Nubian goats. *Small Rum Res*; 55:15-19.
- Squires, E. J. (2003). *Applied Animal Endocrinology*. London, UK., CABI Publishing.
- Takahashi, T. (2006). Biology of the prolactin family in bovine placenta. I. Bovine placental lactogen: Expression, structure and proposed roles. *Animal Science Journal*. 77: 10-17.
- Ungerfeld R, Rubianes E, 2002. Short term primings with different progestogen intravaginal devices (MAP, FGA and CIDR) for eCG-estrous induction in anestrus ewes. *S Rum Res* 46:63-66.
- Ungerfeld, R. *Reproducción en los animales domésticos*. Tomo I. Melibea Ed, 2002.
- Uribe-Velásquez, L.F.; Souza, M.I.L.; Osorio, J.H. Origem e características do folículo préovulatório depois de luteólise inducida em diferentes estágios da fase luteal do ciclo estral em ovelhas. *Veterinária y Zootecnia*, v.2, n.1, p.32-41, 2008
- Viñoles C, Forsberg M, Rubianes E. 2000. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in the ewe. *Proceedings 14th International Congress on Animal Reproduction*, Stockholm , 2-6 July, 1:26.
- Zhang, L. Y., Mi, H., Yan, J. K., Yan, X. X., & Yang, L. (2017). Pregnancy-associated changes in expression of progesterone receptor and

progesterone-induced blocking factor genes in bone marrow of ewes.
Animal reproduction science, 186, 77-84.

III. Artículo

Sincronización de la respuesta reproductiva a través de la partición de esponjas impregnadas con FGA más eCG en Ovejas.

Resumen

El objetivo del presente estudio fue comparar la efectividad de diferentes progestágenos y la reducción de la dosis de acetato de flurogestona y medroxiprogesterona (FGA o MAP) sobre la respuesta reproductiva de ovejas de la raza Dorper. Se utilizaron 40 ovejas, con un peso vivo y condición corporal (54.3 ± 2.2 kg y 3.0 ± 0.1 unidades; escala del 1-5, respectivamente), y sujetas a 4 tratamientos para sincronización del esto y la ovulación: I) mitad de una esponja (n=11) con 10 mg de FGA (FGA ~20), II) una esponja completa (n= 9): con 20 mg de FGA (FGA20), III) mitad de una esponja (n=11) con 30 mg de MAP (MAP~30) y IV) una esponja completa (n= 9) con 60 mg de MAP (MAP60). Ambos grupos fueron tratadas por 6 días, y al momento del retiro se les administraron 300 UI de eCG por vía IM. La respuesta estral en general fue de $\geq 89\%$ ($P>0,05$), y el porcentaje de ovulación fue de $\geq 80\%$ para ambos grupos ($P>0,05$). El porcentaje de preñez fue menor en el FGA20 (44%) comparado con el 64%, 56% y 64% del FGA~10, MAP~30 y MAP60 ($P>0.05$), respectivamente. En conclusión, la reducción de la dosis de FGA o MAP a corto plazo (6d) para la inducción y sincronización del esto en ovejas de la raza Dorper resultó ser un método efectivo, ya que se obtienen resultados similares con dosis más bajas en comparación con el uso de esponjas comerciales completas.

Palabras claves: Estro, porcentaje de preñez, tasa ovulatoria.

3.1 Introducción

Los protocolos utilizados para la inducción y sincronización del estro y la ovulación en ovejas están basados tradicionalmente en la inserción de esponjas intravaginales impregnadas con progestágenos (Abecia *et al.*, 2012). Las tecnologías para la sincronización de la respuesta estral y la ovulación en las ovejas están basadas principalmente en el control de la vida útil de los cuerpos lúteos a través del uso de tratamientos con prostaglandina o mediante el uso de progestágenos / progesterona más gonadotropina coriónica equina (eCG) durante un periodo de 12 a 14 días (Viñoles *et al.*, 2001; Abecia *et al.*, 2011; Martemucci y D'Alessandro, 2011). En los sistemas con tratamientos con progestágeno son bastante largos, y muchas veces no cumplen con las expectativas de los productores, en ovejas en producción de leche, los productos (leche, quesos y derivados) no pueden utilizarse durante el período de tratamiento. En efecto, se han restringido el uso de la progesterona (Europa) por restricción legislativa sobre los residuos hormonales (límites máximos de residuos, R.D. 2178/2004) en la carne y la leche (Martemucci y D'Alessandro, 2011). Por lo tanto, para disminuir las dosis administradas en esponjas intravaginales impregnadas de acetato de fluorogestona (FGA) o acetato de medroxiprogesterona (MAP) se puede evaluar su efecto utilizando esponjas partidas y además de acortar el periodo de tratamientos con estos progestágenos (<10 d), se pueden utilizar esponjas partidas y esponjas completas, además de la combinación de estos progestágenos con eCG al momento de retiro (Ungerfeld y Rubianes, 2002).

Un método que puede resultar eficaz para la sincronización de la respuesta estral en ovejas es a través del control en la fase luteal del ciclo estral proveyendo progesterona exógena, aplicando de forma tradicional esponjas de poliuretano impregnadas de acetato de fluorogestona (FGA) (Ungerfeld y Rubianes, 2002).

Cabe mencionar, que estos métodos han resultado en una alta variabilidad en la tasa de fertilidad (). El conocimiento de la dinámica ovárica y las oleadas foliculares con la presencia de dominancia folicular pueden ser una alternativa que indican las posibilidades para controlar el desarrollo folicular mediante la sincronización de la oleada folicular que da lugar al folículo preovulatorio, y sincronizar el celo y la ovulación (Menchaca y Rubianes 2004). Sin embargo, a pesar del hecho de que los tratamientos con progesterona o progestágenos están igualmente relacionados con inducción de vaginitis (Vasconcelos *et al.*, 2016), y además pueden ser muy costosos, y cuando se aplican protocolos para la sincronización del estro en la oveja consisten en tratamientos intravaginales a largo plazo con progestágenos o progesterona durante 12 a 14 días (Abecia *et al.*, 2011; Viñoles *et al.*, 2001), al momento su retiro se ha observado provocan vaginitis (Martínez Ros *et al.*, 2018), lo cual afecta el transporte y la viabilidad espermática que da como resultado una disminución de la fertilidad (Baril *et al.*, 1998; Rubianes *et al.*, 1998; Menchaca y Rubianes, 2004; Fleisch *et al.*, 2012).

Se ha reportado que los tratamientos de progestágeno a corto plazo (6 días), muestra niveles más altos de progestágeno en el momento del retiro del dispositivo, es al menos tan efectivo como los tratamientos tradicionales (12 a 14 días) obtenidos aun fuera de estación reproductiva (Ungerfeld y Rubianes, 2002).

Actualmente, se han desarrollado estudios comparativos previos sobre el inicio del comportamiento estral en ovejas tratadas con esponjas intravaginales impregnadas con FGA o dispositivos intravaginales (CIDR) en protocolos a corto tiempo (6-7 d) (Martínez-Ros *et al.*, 2018; Martínez-Ros *et al.*, 2019).

El objetivo del presente estudio fue evaluar la eficacia de los tratamientos con progestágeno, FGA o MAP más eCG a través de un protocolo de corto tiempo utilizando esponjas bipartidas (medias esponjas) y esponjas completas para sincronizar el estro y la ovulación en las ovejas durante época natural de reproducción.

3.2. Materiales y métodos

3.2.1. General

Todos los métodos y manejo de las unidades experimentales usadas en este estudio fueron en estricta medida con los lineamientos aceptados de uso de ética (FASS, 2010) y nivel nacional (NAM, 2002) con aprobación institucional con número de referencia UAAAN-UL/14-510-400-2.

Lugar de estudio, condiciones ambientales, animales, y manejo

El experimento se realizó durante el mes de abril, en el norte de México, (Coahuila; 26° 04' N y 103° 26' O) bajo condiciones de fotoperiodo natural. La precipitación pluvia media anual y temperatura es de 230 mm y de 24°C, respectivamente, con una temperatura máxima y mínima de 41°C y -1°C (en el verano e invierno, respectivamente). La duración del día es de 23 h, 41 min en el solsticio de verano y de 10 h, 9 min en el solsticio de invierno.

Se utilizaron ovejas multíparas de la raza Dorper, manejadas bajo condiciones intensivas, las cuales fueron alimentadas con sobrantes de una ración totalmente mezclada de ganado lechero, los animales fueron alimentados diariamente (1200 y 1800) con una dieta basada en un 60% de ensilaje de sorgo, 40% de concentrado (14% PC) y mezcla de minerales. Las ovejas y machos tenían alimento, agua y sales minerales a libre acceso y estuvieron alojados en corrales abiertos bien ventilados y sujetos a las variaciones naturales del fotoperiodo. Todos los animales experimentales tenían un buen estado de salud que fue supervisado durante todo el periodo experimental.

Hembras

Se utilizaron hembras multíparas (n=100) con una edad entre 15 y 24 meses, para evaluar el estatus ovárico de las hembras se les realizó dos ultrasonografía transrectal a los 14 y 7 días previo a la aplicación de los tratamientos (Calderón- Leyva *et al.*, 2019); para lo cual se utilizó un equipo de ultrasonido (ALOKA 500) con un transductor lineal de 7.5 MHz (Corometrics Medical Systems, Inc., Wallingfors, CT, USA). Una vez confirmada el número de hembras anovulatorias se seleccionaron un total de 40 hembras.

Tratamiento de las hembras.

Las hembras se dividieron en 4 grupos homogéneos en cuanto peso y condición corporal (54.3 ± 2.2 kg y 3.0 ± 0.1 unidades; respectivamente) previo a los tratamiento las hembras fueron separadas de los machos en corrales separado (4 x 6 m) a una distancia de más de 100 mts entre uno y otro, posteriormente fueron divididas para la sincronización del estro y la ovulación en los siguientes tratamientos: I) mitad de la esponja (n=11) impregnada con aprox.

10 mg acetato de flurogestona FGA (FGA ~20 mg) (Chronogest®. Intervet, México), II) esponja completa (n= 9): impregnada con 20 mg de FGA (FGA20),

El corte en las esponjas de 20 mg de FGA mg se realizó con una tijera en forma transversal de la esponja, dividiéndola en dos partes iguales (quedando en cada mitad aproximadamente (10 mg, respectivamente).

Las esponjas se insertaron el mismo día (8:00 pm) para todos los grupos y se mantuvieron durante 6 días. Para la inserción de las esponjas se utilizó el mismo aplicador (Chronogest®, Intervet), el cual fue previamente desinfectado con 2 mL de solución de florfenicol (Furacine®, Pisa) antes de ser insertado vía vaginal en cada oveja. El 04 de mayo (Día 0), momento del retiro de las esponjas intravaginales, a todas las hembras se les aplicó 300 UI de eCG por vía IM (Folligon, Intervet, México) para sincronizar la ovulación y la respuesta estral.

Variables a evaluar

La actividad sexual y respuesta reproductiva de las hembras fue monitoreada del día 0 al día 10 días posteriores a la aplicación de la eCG y las variables evaluadas fueron intervalo del inicio del estro por observación directa diariamente (0800 y 1800 horas), y que consistió en registrar la primer monta del macho a la hembra. Mientras que el registro de la respuesta estral, consistió en la introducción de un macho con mandil durante 15 minutos y se registró el número de hembras que aceptaron la monta y permanecieron inmóviles a la monta del macho (Calderón-Leyva *et al.*, 2019). Las ovejas detectadas en celo fueron llevadas a un corral de montas donde recibieron monta directa, utilizando machos de fertilidad probada. En total se utilizaron 12 sementales distribuyendo 3 sementales por corral para realizar la monta directa.

La respuesta ovulatoria, se determinó a los 10 días después del inicio del estro considerando el número de hembras con la presencia de un cuerpo lúteo en ambos ovarios, la cual se determinó utilizando ultrasonografía transrectal en tiempo real (Aloka SSD 500 con transductor de 7.5 Mhz (Aloka Corometrics Medical Systems Inc., Wallingford, CT) bajo el método de Viñoles *et al.* (2004). El porcentaje de ovulación se determinó del número total de cuerpos lúteos observados por ultrasonografía transrectal y dividido por el número total de hembras que ovularon. El porcentaje de preñez, se determinó a los 45 días después del empadre por ultrasonografía transrectal (HS-2000, Honda Electrónica CO, LTD.) para lo cual se utilizó un transductor de 7,5 MHz.

Análisis estadísticos

La actividad estral, porcentaje de ovejas que ovularon y que quedaron gestantes en ambos tratamientos se analizaron mediante una prueba de Chi-cuadrada. El intervalo del inicio del estro, así como, la duración del estro, y números de cuerpos lúteos, analizaron mediante un ANOVA considerando el tratamiento, si hubo diferencias entre tratamientos se compararon con una prueba de t-student. Todos los análisis estadísticos se efectuaron mediante el paquete estadístico SYSTAT 10 (Evenston. ILL, USA, 2000). Se consideró una diferencia estadística de ($P < 0.05$).

3.3. Resultados

La respuesta sexual y reproductiva de las hembras sujetas a los diferentes tratamientos se muestra en el Cuadro 1. En promedio general que manifestaron actividad estral en ambos grupos fue de más del 90%, no observándose

diferencia estadística ($P>0.05$). Mientras el que porcentaje de hembras que ovularon en general fue de más de 80% para ambos grupos ($P>0,05$). El intervalo de inicio del estro para FGA~10 (49) seguidos del FGA20 ($42.0\pm$; $P>0.05$). Sin embargo la duración del estro no mostro diferencias ($P>0.05$) entre tratamientos. El porcentaje de preñez fue menor en el grupo FGA20; 44% comparado con el 64%, del grupo FGA~10 ($P>0.05$), respectivamente.

Tabla 1. Respuesta sexual y reproductiva de hembras múltiparas anovulatorias de la raza Dorper Sujetas a los siguientes tratamientos: I) mitad de la esponja impregnada con FGA (FGA~10), II) esponja completa impregnada con 20 mg de FGA (FGA20), bajo condiciones el anestro natural (Abril, 26°LN).

Hembras (n)	FGA~10	FGA20
	11	9
Intervalo de inicio de estro (h)	49.2±3.4	42±5.5
Respuesta estral (%)	90 (10/11)	89 (8/9)
Ovulación (%)	82 (9/11) ^a	82 (7/9) ^a
Tasa de cuerpos lúteos (n)	1.1 ± 0.1 ^a	1.3 ± 0.1 ^a
Duración del estro (h)	13.3 ± 1.1 ^a	18.7 ± 1.1 ^a
Preñez (%)	64 (7/11) ^a	44 (4/9) ^a

3.4. Discusión

En el presente estudio se demuestra que un protocolo corto (6 días) de esponjas intravaginales impregnadas ya sea con FGA en dosis reducidas son efectivas para inducir el estro en ovejas, ya que se observó que más del 90% de las ovejas tratadas ya sea con dosis menores (10 y 30 mg aprox) o dosis completas 20 y 60 mg de FGA, respectivamente; estos resultados son similares a los encontrados por Ungerfeld y Rubianes, (2002) que no observaron diferencias significativas entre los tratamientos para las ovejas en estro (FGA: 91.5%). Sin embargo se esperaba que la presentación de estros en los grupos tratados con dosis reducidas tuvieran una menor respuesta estral debido a que la cantidad de FGA impregnada en la esponja era menor (FGA \approx 10) a la recomendada; cabe señalar, que bajo estas condiciones de este estudio, la mitad de la esponja se comportó de manera similar a la dosis completa (FGA 20; respectivamente). En cuanto a los resultados para dosis reducida de (FGA \approx 10 mg) son similares a lo reportado Robinson *et al.* (1968) en ovejas tratadas con 10 mg de FGA obteniendo un 73% de la respuesta estral; este resultados nos permiten destacar que el método utilizado en la presente investigación puede ser útil y suficiente para poder disminuir la dosis y un menor plazo y costos, partiendo la esponja y colocándola durante 6 días en la oveja (Menchaca y Rubianes, 2002), a diferencia un tratamiento clásico a largo plazo (12 a 14 d) de las recomendaciones con dosis mayores, por lo que los resultados este trabajo son útiles y apoyan los tratamientos a corto plazo con progestágenos que han resultado se idóneos para

el manejo de la reproducción en ovinos (Menchaca y Rubianes, 2004; dos Santos-Neto *et al.*, 2015, Ramírez- Ros *et al.*, 2018).

Respecto a la reducción de la dosis en nuestro estudio indujo al 100% del estro, mientras que la mitad de la esponja indujo el 90% de las hembras, similar a lo encontrado por Greyling *et al.* (1997) cuando redujeron la dosis MAP, partiendo la esponja por la mitad; no observaron diferencias significativas en la presentación del estro, obteniendo el 95% para la esponja completa impregnada con 60 mg, y 97% al ser comparada con la esponja partida a la mitad (MAP \approx 30 mg).

Lo anterior, nos permite demostrar que, la disminución de la dosis vía partición (FGA \approx 10 mg) de esponja puede ser tan efectiva como una dosis completa de FGA (20 y 60 mg) en ovejas durante el época reproductiva natural. Respecto al intervalos de inicio del estro, no se observaron diferencias (Cuadro 1; $P > 0,05$) entre grupos, obteniendo resultados que se encuentran en un intervalo de tiempo de 42.0 a 53.5 h después del retiro de la esponja. Lo que es similar a lo encontrado por otros autores que no encontraron diferencias significativas en el inicio del comportamiento del estro (32.0 ± 6.0 y 33.8 ± 4.0 h) después del retiro de dispositivos (CIDR) y de las esponjas respectivamente. (Martínez-Ros *et al.*, 2019) y ($46.2 \pm 2.1.0$ y 44.9 ± 2.1 h) después del retiro de esponjas con FGA o MAP por 6 o 14 días con dosis reducidas o dosis completas (Ungerfeld y Mnchaca, 2004).

En efecto, se esperaba que al utilizar dosis reducidas (FGA) la presentación del estro fuera más rápido, ya que se conoce que la función de los progestágenos es evitar el desencadenamiento de la liberación de GnRH y por tanto de

gonadotropinas (Cordero- Mora *et al.*, 2011). El porcentaje ovulación utilizando ya sea la mitad o la esponja completa de FGA (FGA \approx 10 mg; o FGA 20 mg; 82%). Al igual que la duración del estro fue similar para ambos grupos ($P>0.05$). Sin embargo, respecto a la porcentaje de gestación fue menor ($P>0.05$) en las hembras tratadas con FGA (FGA \approx 10 mg; 44% vs FGA 20 mg; 64%) estos resultados son similares a lo reportado en otro estudio respecto a las tasas de concepción (62.55 y 67.4%). utilizando MAP o FGA, respectivamente (Ungerfeld y Rubianes 2002).

3.5. Conclusiones

En conclusión, la partición de la esponja (FGA) a corto plazo (6d) para la inducción y sincronización del estro en ovejas de la raza Dorper resultó ser un método efectivo. Lo anterior, debido a que un corto plazo del tratamiento, se pueden obtener resultados similares entre la media esponja y esponja completa.

3.6. Agradecimientos

Inmensamente a mis asesores de la universidad por la oportunidad de trabajar con ellos a mi alma terra mater UAAAN-UL, Torreón, Coahuila, México en el desarrollo de este estudio.

3.7. Literatura citada

- Abecia, J.A., Forcada, F., & Gonzalez-Bulnes, A. (2012). Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Animal Reproduction Science* 130,173-17.
- Abecia, J. A., Forcada, F., & González-Bulnes, A. (2011). Pharmaceutical control of reproduction in sheep and goats. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 27(1), 67-79.
- Viñoles, C., Forsberg, M., Banchemo, G., & Rubianes, E. (2001). Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology*, 55(4), 993-1004.
- Baril, G., Freitas, V.J.F., Saumande, J., 1998. Les traitements progestagènes d'induction/synchronisation de l'oestrus chez la chèvre: le point sur les recherches récentes. *Rev. Méd. Vét.* 149, 359–366.
- Calderón-Leyva, G., Meza-Herrera, C. A., Rodríguez-Martínez, R., Ángel-García, O., Rivas-Muñoz, R., Delgado-Bermejo, J. V., & Véliz-Deras, F. G. (2019). Effect of glutamate and/or testosterone administration on appetitive and consummatory sexual behaviors in pubertal rams and their influence on the reproductive performance of nulliparous anovulatory ewes. *Journal of Veterinary Behavior*, 30, 96-102.
- dos Santos-Neto, P.C., García-Pintos, C., Pinczak, A., & Menchaca, A. (2015). Fertility obtained with different progestogen intravaginal devices using short-term protocol for fixed-time artificial insemination (FTAI) in sheep. *Livestock Science*, 182, 125-128.
- Fleisch, A., Werne, S., Heckendorn, F., Hartnack, S., Piechotta, M., Bollwein, H., ... & Janett, F. (2012). Comparison of 6-day progestagen treatment with

- Chronogest® CR and Eazi-breed™ CIDR® G intravaginal inserts for estrus synchronization in cyclic ewes. *Small Ruminant Research*, 107(2-3), 141-146.
- Martemucci, G., & D'Alessandro, A. G. (2011). Synchronization of oestrus and ovulation by short time combined FGA, PGF2 α , GnRH, eCG treatments for natural service or AI fixed-time. *Animal reproduction science*, 123(1-2), 32-39.
- Martinez-Ros, P., Astiz, S., Garcia-Rosello, E., Rios-Abellan, A., & Gonzalez-Bulnes, A. (2019). Onset of estrus and preovulatory LH surge and ovulatory efficiency in sheep after short-term treatments with progestagen-sponges and progesterone-CIDRs. *Reproduction in Domestic Animals*, 54(2), 408-411.
- Martinez-Ros, P., Lozano, M., Hernandez, F., Tirado, A., Rios-Abellan, A., López-Mendoza, M., & Gonzalez-Bulnes, A. (2018). Intravaginal device-type and treatment-length for ovine estrus synchronization modify vaginal mucus and microbiota and affect fertility. *Animals*, 8(12), 226.
- Menchaca, A., & Rubianes, E. (2004). New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction Fertility and Development*, 16, 403–414.
- Ungerfeld, R., Rubianes, E., 2002. Short term primings with different progestogen intravaginal devices (FGA and CIDR) for eCG-estrous induction in anestrus ewes. *Small Rumin. Res.* 46, 63–66.

Rubianes, E., de Castro, T., Kmaid, S., 1998. Estrous response after a short progesterone priming in seasonally anestrous goats. *Theriogenology* 49, 356.