

ESTUDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE PROGESTERONA, ESTRADIOL Y COLESTEROL DURANTE LA IMPLANTACIÓN EMBRIONARIA EN DOS LÍNEAS SELECCIONADAS DE FORMA DIVERGENTE POR CAPACIDAD UTERINA EN CONEJO. PRIMEROS RESULTADOS.

Mocé, M. L., Climent, A., Blasco, A., Santacreu, M. A.

Departamento de Ciencia Animal. Universidad Politécnica de Valencia.
22012. Camino de Vera, 14. 46071 Valencia.

mamocer@dca.upv.es

INTRODUCCIÓN

Se dispone de dos líneas que presentan un número de embriones implantados notablemente diferente (2.10 embriones) (Santacreu *et al.*, 2000). Esta diferencia parece no deberse ni a la tasa de ovulación (Santacreu *et al.*, 2000), ni a la tasa de fecundación (Gallego 1997). En un estudio previo tampoco se encontraron diferencias para el número de embriones recuperados a las 30 horas post-coito (Gallego 1997).

El objetivo de este trabajo es estudiar si la concentración de progesterona, estradiol o colesterol en los momentos previos a la implantación, explica estas diferencias en supervivencia embrionaria.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales: Las hembras proceden de la generación 11 de dos líneas seleccionadas de forma divergente por capacidad uterina (Blasco *et al.*, 2000). Se utilizaron 32 hembras de la línea de alta capacidad uterina (CU+) y 33 de la línea de baja capacidad uterina (CU-).

Caracteres: Los animales se sacrificaban 6 días después de la monta. Las muestras de sangre se recogieron en el momento del sacrificio. Los caracteres analizados fueron: Tasa de ovulación (TOT) y número de embriones (EMT). Se calculó la supervivencia embrionaria hasta el día 6 de gestación, (SUP), como EMT/TOT. Se analizaron los niveles circulantes de progesterona (Pr), 17 β estradiol (17 β) y colesterol (Co). La Pr fue analizada con un ensayo inmunoanalítico heterólogo competitivo de no equilibrio con separación mediante partículas magnéticas y lectura fotométrica cinética. El 17 β fue determinado usando un kit comercial de DRG Diagnostics (EIA-2693), basado en un ELISA de tipo competitivo y empleando un anticuerpo policlonal. Para determinar Co (libre + esterificado) se usó un autoanalizador COBAS MIRA de ROCHE que emplea el método enzimático CHOD-PAP.

Análisis estadísticos: El modelo utilizado para estimar las medias por mínimos cuadrados de los caracteres TOT, EMT, SUP, Co, Pr y 17 β incluyó los siguientes efectos: línea con dos niveles (CU+ y CU-), estación con 2 niveles (primavera-verano, invierno) y lactación con dos niveles: hembras no lactantes (hembras que en el momento de ser llevadas a sacrificio no tienen gazapos) y hembras lactantes. Además, se realizaron análisis de regresión para estudiar la relación entre Pr, 17 β y Co. Así mismo, también se estudió la relación entre Pr y 17 β con TOT y EMT. El programa estadístico usado fue el GLM del paquete estadístico SAS (SAS 1997).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ambas líneas presentan tasas de ovulación similares (15.16 para la línea CU+ y 14.42 para la línea CU-), (Tabla 1). Para el número de embriones recuperados se observan diferencias significativas entre ambas líneas, con 13.04 embriones recuperados en la CU+ frente a 10.44 embriones en la CU-, (Tabla 1) resultados que corroboran los obtenidos por Santacreu *et al.*, (2000). Para la supervivencia las estimas de las diferencias son relevantes pero no significativas (0.86 para la línea CU+ y 0.74 para la línea CU-). Estos resultados están de acuerdo con las diferencias estimadas en el segundo parto de estos mismos animales por Santacreu *et al.*, 2000.

Los valores medios obtenidos para la progesterona (9 ng/ml), 17 β estradiol (28 pg/ml), y colesterol (64 mg/dl) se encuentran dentro del rango de los valores publicados: de 5 ng/ml a 12 ng/ml para la progesterona (Stoufflet *et al.*, 1988; Harrington *et al.*, 1977), de 4 pg/ml a 200 pg/ml en el 17 β estradiol (Browning *et al.*, 1980; Firyal S. Khan-Dawood *et al.*, 1984) y de 30 y 85 mg/dl (Favarato y Zatta 1990; Chiericato *et al.*, 2000) para el colesterol. La variabilidad de los resultados publicados puede deberse al protocolo usado en la determinación (Harrington *et al.*, 1977), estado fisiológico de los animales, (Fortun-Lamothe *et al.*, 1999; Virad Drouet *et al.*, 1984), edad de los animales (Virad Drouet *et al.*, 1984) o bien al escaso tamaño de muestra usado en los experimentos (alrededor de 5 animales).

Cuando se comparan los valores de Pr, 17 β y Co de las dos líneas no se obtienen diferencias significativas ni relevantes (Tabla 1). En ratón sí se encontraron diferencias para los niveles séricos de colesterol al comparar una línea seleccionada por tamaño de camada al nacimiento con una línea control, observando que los animales que pertenecían a la línea seleccionada tenían niveles de colesterol significativamente superiores a los animales de la línea control (Ribeiro *et al.*, 1994)

Tabla 1: Medias por mínimos cuadrados, errores estándar y coeficiente de variación para: Tasa de ovulación (TOT), número de embriones recuperados (EMT), supervivencia embrionaria el día 6 de gestación (SUP), colesterol (Co), progesterona (Pr) y 17 β estradiol (17 β) para la línea de alta (CU+) y la línea de baja capacidad uterina (CU-).

	CU+				CU-				
	N	media	e.s	c.v	N	media	e.s	c.v	sig
TOT	28	15.16	0.45	0.13	27	14.42	0.44	0.15	n.s
EMT	24	13.04	1.04	0.27	21	10.44	1.03	0.40	*
SUP	24	0.86	0.07	0.26	21	0.74	0.07	0.39	n.s
Co mg/dl	26	64.08	3.82	0.25	26	64.6	3.62	0.31	n.s
Pr ng/ml	21	8.90	0.5	0.29	23	8.95	0.47	0.25	n.s
17β pc/ml	26	27.45	1.18	0.3	26	27.93	1.11	0.3	n.s

N (número de datos) media, e.s (error estándar), c.v (coeficiente de variación calculado con datos sin corregir).

A pesar de que el colesterol es precursor de las dos hormonas bajo estudio no se encontró relación entre los niveles de Pr y 17 β con respecto al Co. Así mismo, aunque a partir del día 5 de gestación el cuerpo lúteo necesita estradiol para seguir produciendo progesterona (Miller y Keyes 1975, 1978) tampoco se obtuvo

correlación entre los niveles séricos de ambas hormonas, resultado que coincide con el obtenido en cerdo (Kesinger *et al.*, 1986).

Tampoco se encontró relación entre la TOT y los niveles de Pr. Si embargo, en cerdos sí se ha observado esa relación (Kesinger *et al.*, 1986); así mismo Boiti *et al.*, observaron diferencias en la concentración de progesterona entre conejas con uno o más de un cuerpo lúteo (Boiti *et al.*, 1996). En nuestro experimento las conejas presentan un mínimo de diez cuerpos lúteos, motivo que podría explicar el no haber encontrado relación.

Por último, tampoco se encontró ninguna relación entre los niveles de 17 β o los de Pr con el número de embriones recuperados, lo que coincide con los resultados obtenidos en conejos (Challis *et al.*, 1973) y en cerdos sacrificados al final de la gestación (Kesinger *et al.*, (1986)

El conjunto de resultados indica que las diferencias entre ambas líneas ya se presentan el día 6 de gestación y que los niveles séricos de Pr, 17 β y Co, el día 6 de gestación, no parecen explicar la diferencia en mortalidad embrionaria entre las líneas CU+ y CU-.

REFERENCIAS

- BLASCO, A., ORTEGA, J.A., SANTACREU, M.A. 2000. *7th World Rabbit Congress. Valencia 4-7 July 2000. Vol A: 347-352.*
- BOITI, C., CANALI, C., MONACI, M., STRADAIOLI, G., VERINI SUPPLIZI, A., VACCA, C., CASTELLINI, C., FACCHIN, E. 1996. *6th World Rabbit Congress. Toulouse 1996. Vol 2: 45-49.*
- BROWNING, J. Y., KEYES, L. P., WOLF, R.C. 1980. *Biol. Reprod.* 23, 1014-1019.
- CHALLIS, J.R.G, DAVIES, I.J., RYAN, K.J. 1973. *Endocrinology Vol 93 N^o 4 971-976.*
- CHIERICATO, G.M., RIZZI, C., RAVAROTTO, L., ZAKARIA, H. 2000. *7th World Rabbit Congress. Valencia 4-7 July 2000. Vol A: 111-116.*
- FAVARATO, M., ZATTA, P. 1990. *J. Appl. Rabbit Res.* 13: 14-15.
- FIRYAL S. KHAN-DAWOOD, PH.D., AND M. YUSOFF DAWOOD, M.D. 1984. *Am J Obstet Gynecol. Vol 150, Number 5, Part 1, 450-455.*
- FORTUN-LAMOTHE, L., PRUNIER, A., BOLET, G., LEBAS, F., BOYAZOGLU, J., RAFAI, P., THOMAS, C. 1999. *Livestock Production Science.* 60: 2-3, 229-241.
- GALLEGRO, M. 1997. *Tesis doctoral. U.P.V. Valencia. España.*
- HARRINGTON, F.E., ROTHERMEL., J.D. 1977. *Life Sciences. Vol 20, 1333-1340.*
- KENSINGER, R.S., COLLIER, R.J., BAZER, F.W., KRAELING, R.R. 1986. *J. Anim. Sci.* 62: 1666-1674.
- MILLER, J.B., KEYES, P.L. 1975. *Endocrinology, 97: 83-90.*
- MILLER, J.B., KEYES, P.L. 1978. *Endocrinology, 102: 31-38.*
- RIBEIRO, ELD., KITTOK, R.J., NIELSEN, M.K. 1994. *J. Anim. Sci.* 72 (11): 2943-2947
- SANTACREU, M.A., ARGENTE M.J., MOCE M. L., BLASCO A. 2000. *7th World Rabbit Congress. Valencia 4-7 July 2000. Vol A: 491-496.*
- SAS 1997. *SAS /STAT User`s Guide (Release 6.03). SAS Inst, Cary, NC.*
- STOUFFLET, I., CAILLOL, M. 1988. *J. Reprod. Fert.* 82, 209-218.
- VIRAD DROUET, F., PROVOT, F., COUDERT, P. 1984. *3er World Rabbit Congress. Vol II: 543-552.*