

## EFFECTOS DE LA TASA DE OVULACION SOBRE LAS PERDIDAS PARCIALES DE EMBRIONES PREVIAS A LA PLACENTACION EN CONEJA

Molina, I., Pla, M., García, F.

Cátedra de Fisiogenética, E.T.S.I.A. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera, 14. 46022 Valencia.

### RESUMEN

Se utilizaron 99 conejas, de formato medio, nulíparas gestantes. Del total de los animales utilizados, 73 fueron sacrificados 4 días postcoito, procediéndose al estudio de sus estructuras ováricas, así como al conteo de los blastocistos presentes en ese momento. Las 26 hembras restantes fueron laparoscopizadas 12 días postcoito efectuándose el conteo de los embriones en desarrollo y en regresión presentes en cada cuerno uterino, así como del número de cuerpos lúteos de cada ovario. Se estudiaron las pérdidas parciales 4 y 12 días postcoito, observándose que tales pérdidas se producen esencialmente durante la fase de tránsito oviductal y que cuanto más tiempo transcurre desde el momento de la ovulación, la cuantía de estas es más independiente de la tasa de ovulación. No manifestándose hasta los 12 días postcoito ningún efecto de la diferencia de la tasa de ovulación observada entre ovarios sobre dichas pérdidas. Se comprueba además, - que los dos ovarios constituyen una sola unidad funcional en relación con los mecanismos que definen la tasa de ovulación.

### PALABRAS CLAVE

Coneja, pérdidas parciales, tasa de ovulación, gestación.

### INTRODUCCION

En anteriores trabajos (GARCIA, 1982, GARCIA et al., 1983, PLA, 1984, MOLINA et al., 1986) se ha podido comprobar la existencia

de una relación entre la tasa de ovulación y la cuantía de las pérdidas parciales de embriones, sobre todo en las primeras etapas de la gestación. Dicha relación, está justificada en las especies en las que ambos cuernos uterinos se comunican o en las que presentan un útero común -permitiendo la migración transuterina de embriones- o bien en aquella en las que la tasa de ovulación es similar en ambos ovarios. Sin embargo, en la coneja, no se presenta ninguna de las dos situaciones anteriores, lo que podría ocasionar una acumulación de embriones en uno de los cuernos uterinos, lo cual determinaría pérdidas de embriones adicionales a las explicadas estrictamente por la mayor o menor tasa de ovulación conjunta de ambos ovarios.

En el presente trabajo se aborda el estudio del efecto de la diferencia entre la tasa de ovulación de ambos ovarios en dos etapas tempranas de la gestación: hasta los cuatro días postcoito, que se corresponde con la fase de tránsito oviductal de los embriones y hasta los 12 días postcoito, que cubre la fase anterior, la fase de vida libre en el útero y el inicio de la placentación. Dichas etapas se caracterizan por una independencia notable entre las pérdidas parciales y el número de embriones presentes debido a la no competencia de estos por el espacio uterino y los nutrientes en este momento (ADAMS, 1960, 1970; HAFEZ, 1964, 1968, 1969, GARCIA et al., 1983, PLA, 1984).

La continuación lógica de este trabajo -en fase de realización- se centrará en el estudio de la tasa de ovulación diferencial entre ovarios sobre las pérdidas parciales de fetos más tardías y hasta el parto, fases de la gestación en las que se hace patente ya la competencia entre fetos por el espacio uterino y los nutrientes (ADAMS, 1960, 1962, GARCIA, 1982, GARCIA et al., 1983, PLA, 1984).

#### MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 99 conejas, de formato medio, nulíparas gestantes, adaptadas a jaulas con suelo de rejilla y alojadas en condiciones de ambiente controlado con 16 h. de iluminación diaria. La entrada en reproducción se realizó a los 4 meses y medio de edad.

Del total de las hembras utilizadas, 73 fueron sacrificadas a los 4 días postcoito, recuperándose los ovarios y el tracto reproduc

tor que fue separado en oviductos y cuernos uterinos. Se procedió a la enucleación y conteo de todos y cada uno de los cuerpos lúteos - presentes en cada ovario, así como a la perfusión de los oviductos y cuernos uterinos con suero clorurado simple (previamente atemperado en estufa) para la recuperación de los blastocistos realizándose separadamente el conteo de los blastocistos correspondientes al tramo derecho del tracto reproductivo (oviducto y cuerno uterino) así como de los correspondientes al tramo izquierdo. Las 26 hembras restantes fueron laparoscopizadas a los 12 días postcoito, procediéndose al conteo del número de embriones en desarrollo y en regresión - presentes en cada cuerno, así como del número de cuerpos lúteos contenidos en cada ovario.

Sobre las 26 hembras laparoscopizadas se calcularon las pérdidas parciales 12 días postcoito, mientras que con las 73 hembras - que fueron sacrificadas se calcularon las pérdidas parciales 4 días postcoito, ambas referidas a la tasa de ovulación diferencial entre ovarios.

Los datos fueron analizados siguiendo dos enfoques distintos.- El primero de ellos considera los valores globales de la tasa de ovulación y las pérdidas parciales de embriones para cada individuo, introduciendo una variable adicional que expresa el valor de la diferencia entre las tasas de ovulación correspondientes a ambos ovarios. En el segundo se consideran los valores de la tasa de ovulación y pérdidas parciales de embriones correspondientes a uno u otro de los ovarios y cuernos uterinos, de tal forma que se consideran dos valores por cada parámetro para cada individuo. En este segundo caso, en los modelos de análisis se contempló el hecho de que los datos correspondientes a uno u otro ovario o cuerno uterino tienen en común el pertenecer a la misma hembra.

Para la realización de los análisis se utilizó el paquete estadístico BMDP (DIXON et al., 1983) implementado en el ordenador UNIVAC 5100 del CC de la UP de Valencia.

## RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla I se consideran los valores de las pérdidas parcia

les (PP) como suma de los correspondientes a los dos cuernos uterinos, comprobándose que, a los 4 días postcoito (cuando los embriones pasan al útero desde el oviducto) se ha producido una importante pérdida, similar a la observada hasta el inicio de la placentación (12 días postcoito) en este mismo trabajo, lo que indicaría que durante la fase de vida libre de los embriones en el útero, e incluso durante la fase de implantación, las PP no son demasiado importantes. ADAMS (1960) evalúa dichas pérdidas en torno al 11'4%, mientras que HULOT y MATHERON (1980) obtienen un 21% para la raza californiana y un 15% para la Neozelandesa. PLA (1984) obtiene un 31'2% de pérdidas parciales 7 días postcoito. En cuanto a las pérdidas parciales desde el día de la implantación hasta el día 12 postcoito PLA (1984) las cifra en un 10'5%, mientras que HULOT y MATHERON (1980) encontraron que estaban próximas al 10%. ADAMS (1960) considerando el período post-implantatorio hasta el final de la gestación, evalúa las pérdidas en esta etapa en un 18'3% de las que un 70% se producirían alrededor del día 13 de gestación. HULOT y POUJARDIEU (1976), para el período de los 12 primeros días de gestación encuentran un 13'5% de pérdidas parciales.

GARCIA et al. (1983) obtienen unas pérdidas parciales 7 días postcoito del 39%, observando los mismos valores (39%) cuando las consideran hasta el día 12 postcoito, lo que apoyaría los resultados obtenidos en el presente trabajo respecto a que tales pérdidas se producen esencialmente durante el tránsito oviductal, en todo caso durante la fase uterina de vida libre previa a la implantación.

En la Tabla II se observa que, existe una correlación positiva, significativamente distinta de cero entre la tasa de ovulación (TO) y las pérdidas parciales (PP) 4 días postcoito, significación que se pierde a los 12 días postcoito, resultados que coinciden con los obtenidos en anteriores trabajos por nuestro equipo (GARCIA et al., 1983, PLA, 1984, MOLINA et al., 1986). La relación existente entre TO y PP en etapas tempranas de la gestación se explicaría teniendo en cuenta que cuanto mayor sea el número de oocitos liberados, mayor puede ser la cuantía absoluta de las pérdidas (ADAMS, 1962, HAFEZ, 1964, GARCIA, 1982, GARCIA et al., 1983, PLA, 1984, MOLINA et al., 1986).

Dado que en el presente trabajo se han encontrado diferencias en la TO de un ovario en relación con el otro (Tabla I), se estudió la posible existencia de un mayor número de PP de embriones cuanto mayor fuera la diferencia entre las TO de los ovarios izquierdo y derecho. En la Tabla II, se observa que el coeficiente de correlación de la tasa de ovulación diferencial entre ovarios ( $|TOI-TOD|$ ) con las PP no es significativamente distinto de cero, tanto 4 como 12 días postcoito, lo que indicaría que en estas etapas de la gestación no existe aún competencia entre los embriones por los nutrientes o por el espacio uterino, fenómeno ya observado con anterioridad (ADMAS, 1960, 1970, HAFEZ, 1964, 1968, 1969, GARCIA, 1982, GARCIA et al., 1983, PLA, 1984).

Se estudió también TO y las PP independizándolas para cada ovario y cuerno uterino, cuyos valores medios y rango de variación se contemplan en la Tabla III. En la Tabla IV se presentan los valores de los coeficientes de correlación entre las distintas variables, que siguen pautas similares a las observadas cuando se consideraron la TO y PP de embriones globalmente para cada coneja.

Cuando se comparan los valores de la Tabla I con los correspondientes a la Tabla III, se observa que el valor mínimo del rango de variación de la TO en cada ovario, puede ser de una ovulación, mientras que a nivel de los dos ovarios el valor mínimo es de 7 ovulaciones, resultado este último que coincide con los obtenidos en anteriores trabajos (ADAMS, 1962, PLA et al., 1985, MOLINA et al., 1986). Todo ello permite afirmar que los dos ovarios constituyen una sola unidad funcional en relación con los mecanismos que definen la TO característica de cada especie, confirmando los resultados obtenidos en experiencias de hemiovariectomía realizadas en hamster en cuanto a la respuesta compensatoria por parte del ovario restante para mantener una TO semejante a la que se produciría si estuvieran presentes ambos ovarios (GRADY et al., 1968, GREENWACD, 1973 y BEX et al., 1975).

Así, se concluye que debe existir una regulación del número de folículos preovulatorios, la cual actuaría globalmente sobre los dos ovarios, así como que ambos ovarios presentan una respuesta conjunta a la acción de las hormonas gonadotróficas hipofisarias duran

te la fase antral del crecimiento folicular y en la descarga ovulante.

La característica de la coneja de presentar completamente separadas las partes izquierda y derecha de su tracto reproductor, ha permitido evaluar para cada ovario y su correspondiente cuerno uterino, dentro de cada individuo, el efecto sobre las PP de un mayor o menor número de ovulaciones (TO).

Puesto que las parejas de cuernos uterinos izquierdo y derecho tienen en común el pertenecer a una hembra determinada se ha incluido en los siguientes análisis el factor HEMBRA. Dado que, entre los dos ovarios de una coneja se presenta normalmente una diferente TO se incluyó además un segundo factor de clasificación denominado NIVEL de TO, con dos niveles (1= menor TO; 2= mayor TO). Puesto que los ANOVAS se han realizado sólo con los factores o incluyendo la TO de cada ovario como covariable, se pueden independizar los efectos sobre las PP derivadas de una mayor o menor TO diferencial entre ovarios dentro de una coneja, así como el efecto del valor absoluto de la TO en cada ovario. En la Tabla V se observa a los 4 días postcoito, tanto en el análisis sin covariables como en el que las incluye, un elevado nivel de significación del factor HEMBRA, independiente del efecto del factor NIVEL de TO y de la covariable TO. El factor de clasificación NIVEL de TO alcanza niveles de significación del 5% cuando no se incluye la covariable TO, mientras que cuando ésta se considera dicho factor pierde totalmente su significación, que se ve absorbida por la covariable TO. Tales resultados indican que existen características propias de la hembra e independientes del NIVEL de TO o de la TO, que son causa de pérdidas parciales 4 días postcoito, y además que el nivel diferencial de la TO entre ovarios no ejerce ningún efecto sobre las PP 4 días postcoito, salvo las asociadas estrictamente a la cuantía de la TO en cada ovario.

En cuanto a los resultados obtenidos 12 días postcoito, ninguno de los dos factores ni la covariable TO en cada ovario alcanzan niveles de significación, lo que indicaría que la cuantía de las PP por cuerno uterino no se ven afectadas por dichos factores y covariables durante esta etapa. El hecho de que en el análisis sin co-

variables los dos factores presenten niveles de significación próximos al 10% podría reflejar un efecto residual 12 días postcoito del que dichos dos factores ejercían 4 días postcoito.

Estos resultados apoyarían la hipótesis de un progresivo aumento del grado de independencia en la capacidad de supervivencia de los embriones respecto a su madre y también respecto a la IO.

### CONCLUSIONES

1.- Se comprueba que durante la fase de vida libre de los embriones en el útero e incluso durante la fase de implantación, las pérdidas parciales no son importantes, produciéndose tales pérdidas esencialmente durante la etapa de tránsito oviductal.

2.- Las pérdidas parciales de embriones son más independientes de la tasa de ovulación cuanto más tiempo transcurre desde el momento de la ovulación.

3.- Al menos hasta los 12 días postcoito no se manifiesta ningún efecto de la diferencia en la tasa de ovulación observada entre ovarios sobre las pérdidas de embriones.

4.- Se comprueba que los dos ovarios constituyen una unidad funcional en relación con los mecanismos que definen la tasa de ovulación.

### AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo ha sido subvencionado por la C.A.I.C.Y.T. como parte del proyecto nº 3192-83.

## BIBLIOGRAFIA

- ADAMS, C.E., 1960. Studies on prenatal mortality in the rabbit: The amount and distribution of loss before and after implantation. - J. Endocrin., 19: 325-344.
- ADAMS, C.E., 1962. Studies on prenatal mortality in the rabbit: The effect of transferring varying numbers of eggs. J. Endocrin., - 24: 471-490.
- ADAMS, C.E., 1970. Maintenance of pregnancy relative to the - presence of few embryos in the rabbit. J. Endocrin., 48: 243 - 249.
- BEX, P.J., GOLDMAN, B.D., 1975. Serum gonadotrophins and follicular development in the syrian hamster. Endocrinology, 96: 928-933.
- DIXON, W.J., BROWN, M.B., ENGELMAN, L., FRANE, J.W., HILL, M.A., - JENNRICH, R.I., TOPOREK, J.D., 1983. Statistical software. University of California Press.
- GARCIA, F., 1982. Genética y selección de caracteres reproductivos en el conejo de carne. Tesis Doctoral. U.P. de Valencia.
- GARCIA, F., BASELGA, M., PLA, M., 1983. Mortalidades embrionarias y fetal en las distintas etapas de la gestación en el conejo de carne. Anales del I.N.I.A., 18: 11-27.
- GRADY, K.L., GREENWALD, G.S., 1968. Studies on interactions between the ovary and pituitary follicle-stimulating hormone in - the golden hamster. J. Endocrin., 40: 85-90.
- GREENWALD, G.S., 1973. Distinction between developing and reserve follicles in the cyclic hamster. Ann. Biol. Anim. Bioch. - Biophys., 13, suppl.: 199-210.
- HAFEZ, E.S.E., 1964. Implantation capacity and prenatal development in the rabbit as affected by maternal environment. 5th. Int. -



- Congr. Anim. Reprod. A.I. Trento. Vol. III: 174-180.
- HAFEZ, E.S.E., 1968. Some maternal factors causing post-implantation mortality in the rabbit. VI Congr. Reprod. Insem. Artif. - Paris. Resumés, 92.
- HAFEZ, E.S.E., 1969. Fetal survival in undercrowded or overcrowded unilaterally pregnant uteri in the rabbit. VI Congr. Reprod. Anim. I.A. Paris. Vol. I: 575.
- HULOT, F., MATHERON, G., 1980. Comparaison de la reproduction de lapins de deux genotypes, effets de l'age et de la saison. II Congreso Mundial de Cunicultura. Vol. I: 293.
- HULOT, F., POUJARDIEU, B., 1976. Induction artificielle de l'ovulation et fertilité chez la lapine (*Oryctolagus cuniculus*) - allaitante ou non. Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 16: 635- - 343.
- MOLINA, I., PLA, M., GARCIA, F., 1986. Tamaño de los blastocistos y pérdidas embrionarias cuatro días postcoito en coneja.
- PLA, M., 1984. Modelos biológicos de caracteres reproductivos en el conejo de carne. Tesis Doctoral. U.P. de Valencia.
- PLA, M., ESTANNY, J., MOLINA, I., GARCIA, F., 1985. Efectos de la tasa de ovulación sobre el grado de desarrollo del útero 7 - días postcoito en conejas gestantes. X Symposium de cunicultura. Barcelona. 45-51.

TABLA I

Medias (M), coeficientes de variación (CV) y rango de variación de las variables consideradas a 4 y 12 días postcoito: TO(I+D) ( tasa de ovulación conjunta de ambos ovarios); (TOI-TOD) (tasa de ovulación diferencial entre ovarios); ED(I+D) (embriones en desarrollo presentes en ambos cuernos uterinos); PP (I+D) (pérdidas parciales conjuntas en ambos cuernos uterinos).

(se excluyen los casos en los que ED(I+D)=0)

Intervalo de tiempo	Variable	M	CV	Valor mínimo	Valor máximo	Rango
4 días postcoito 73 ♀♀	TO (I+D) (número)	10.49	0.1907	7.00	15.00	8.00
	TOI-TOD  (número)	2.60	0.7731	0.00	9.00	9.00
	ED (I+D) (número)	8.60	0.2987	2.00	14.00	12.00
	PP (I+D) (número)	1.89	1.2914	-2.00	12.00	14.00
12 días postcoito 26 ♀♀	TO (I+D) (número)	10.35	0.1812	6.00	14.00	8.00
	TOI-TOD  (número)	2.19	0.7850	0.00	6.00	6.00
	ED (I+D) (número)	8.77	0.2242	4.00	13.00	9.00
	PP (I+D) (número)	1.58	1.0014	0.00	6.00	6.00

TABLA II

Matriz de correlaciones de las variables descritas en el texto, excluyéndose los casos en que  $ED(I+D)=0$ . Sobre la diagonal principal se presentan los valores correspondientes a los 4 días postcoito, - bajo la diagonal principal los correspondientes a 12 días postcoito.

	TO (I+D)	TOI - TOD	ED (I+D)	PP (I+D)
TO (I+D)	1.000	0.132	0.452**	0.344**
TOI - TOD	-0.133	1.000	-0.026	0.135
ED (I+D)	0.663**	-0.164	1.000	-0.682**
PP (I+D)	0.362	0.046	-0.458*	1.000

TABLA III

Medias (M), coeficientes de variación (CV) y rango de variación para cada ovario y su correspondiente cuerno uterino de las variables consideradas 4 y 12 días postcoito: TO (tasa de ovulación para cada ovario); ED (embriones en desarrollo para cada cuerno uterino); PP (pérdidas parciales para cada cuerno uterino).

(se excluyen los casos en los que  $ED(I+D)=0$  y aquellos en los que  $TOI=TOD$ ).

Intervalo de tiempo	Variable	M	CV	Valor mínimo	Valor máximo	Rango
4 días postcoito 63 ♀♀	TO (por ovario) (número)	5.29	0.3729	1.00	10.00	9.00
	ED (por cuer.ut.) (número)	4.28	0.4774	0.00	10.00	10.00
	PP (por cuer.ut.) (número)	1.01	1.5599	-2.00	9.00	11.00
12 días postcoito 19 ♀♀	TO (por ovario) (número)	5.18	0.3775	1.00	8.00	7.00
	ED (por cuer.ut.) (número)	4.18	0.4644	0.00	8.00	8.00
	PP (por cuer.ut.) (número)	1.00	1.2081	0.00	4.00	4.00

TABLA IV

Matriz de correlaciones de las variables citadas en el texto para - cada ovario y su correspondiente cuerno uterino, excluyéndose los - casos en que ED (I+D)=0 así como aquellos en los que IOI = IOO. - Sobre la diagonal principal se presentan los valores correspondien- tes a los 4 días postcoito, bajo de la diagonal principal los co- rrespondientes a 12 días postcoito.

	TO (por ovario)	ED (por cuerno uterino)	PP (por cuerno uterino)
TO (por ovario)	1.000	0.694**	0.353**
ED (por cuerno uterino)	0.808**	1.000	-0.429**
PP (por cuerno uterino)	0.320*	-0.299	1.000

TABLA V

ANOVAS para la variable PP (pérdidas parciales por cuerno uterino) con dos factores de clasificación: NIVEL de TO y HEMBRA, sin covariables y con la covariable TO (tasa de ovulación por ovario) correspondientes a 4 y 12 días postcoito.

		PP (por cuerno uterino)		
		P. cola	SIG	C. Regresión
4 días postcoito	HEMBRA	0.0031	**	--
	NIVEL TO	0.0112	*	--
	HEMBRA	0.0021	**	--
	NIVEL TO	0.2633	NS	--
	TO (por ovario)	0.0029	**	+0.35729
12 días postcoito	HEMBRA	0.0819	NS	--
	NIVEL TO	0.1160	NS	--
	HEMBRA	0.1263	NS	--
	NIVEL TO	0.2352	NS	--
	TO (por ovario)	0.5120	NS	-0.17857

\*\* Sig 1%  
 \* Sig 5%  
 NS no sig

SIG = NIVEL DE SIGNIFICACION