

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LAS PROSTAGLANDINAS
 F_{2a} , E_1 y E_2 SOBRE LA MOTILIDAD Y SUPERVIVENCIA ES-
PERMATICA DEL SEMEN DESCONGELADO DE TORO**

Juan Carlos Domínguez Fernández de Tejerina

INDICE

1. INTRODUCCION.-2. SITUACION BIBLIOGRAFIA.-2.1. Esperma de toro e Inseminación Artificial.-2.2. Prostaglandinas en general.-2.3. Prostaglandinas en reproducción.-3. MATERIAL Y METODOS.-3.1. Grupos experimentales.-3.2. Análisis estadístico.-4. RESULTADOS.-5. DISCUSION DE LOS RESULTADOS.-5.1. Influencia de las prostaglandinas usadas sobre la motilidad individual (M.i).-5.2. Influencia de las prostaglandinas usadas sobre la progresión vertical.-5.3. Influencia de las prostaglandinas usadas sobre la progresión horizontal.-5.4. Influencia de las prostaglandinas usadas sobre el índice de supervivencia.-6. RESUMEN. RESUMÉ. SUMMARY.-7. CONCLUSIONES.-8. AGRADECIMIENTOS.-9. BIBLIOGRAFIA.

1. INTRODUCCION

Uno de los mayores logros de la reproducción animal del presente siglo ha sido el rápido desarrollo de las técnicas de Inseminación Artificial (I.A.) (150), entendida como el conjunto de procesos (recogida de semen, dilución, contrasacción, conservación, etc.) encaminados a la aplicación de material espermático en una zona apropiada del aparato genital de la hembra, de forma no natural, dirigida y controlada por el hombre (68).

BONADONNA (221), divide la historia de la I.A. en 4 ó 5 períodos, cada uno de los cuales está marcado por un aporte técnico fundamental: El primer periodo abarca los trabajos de L. SPALLANZANI y la aplicación del método de la

El autor del presente trabajo ha disfrutado durante su realización de una Beca del Plan de Formación de Personal Investigador, concedida por el Ministerio de Educación y Ciencia a través de la Universidad de Oviedo. Esta Tesis Doctoral fue leída ante el tribunal correspondiente el 14 de octubre de 1976, en la Facultad de Veterinaria de León, obteniendo la calificación de Sobresaliente «cum laude».

reproducción animal por IVANOV, en Rusia, todo ello al final del siglo XIX. El segundo período comprende desde los estudios fundamentales de IVANOV, a la construcción de la vagina artificial por AMANTEA, en 1914 en la Universidad de Roma. El tercer período se extiende desde 1914 a 1939 año en el que P. H. PHILLIPS y H. A. LARDY (172) en Madison, Wisconsin (USA), dan a conocer la fórmula de su medio –yema de huevo en solución tamponada– para la dilución y almacenamiento de semen de toro. El cuarto período llega hasta 1952, fecha en que se produce el espectacular desarrollo del método de congelación a -79°C con el propósito de conservar «*in vitro*» el poder fertilizante de los espermatozoides, propuesto por C. POIGE y L. E. A. ROWSON (177) de Cambridge (Gran Bretaña). El quinto período abarcaría desde 1952 hasta nuestros días, fechas en las que hemos sido testigos de una insospechada expansión del método de I.A., gracias fundamentalmente a la conservación –prácticamente ilimitada– del poder fecundante del esperma congelado a -196°C en nitrógeno líquido.

Los períodos mencionados están basados exclusivamente en la historia de la técnica. Sería muy interesante, como sugiere NISHIKAWA (221), el establecimiento de un sistema de clasificación histórica que se fijara más en el desarrollo de la aplicación de la I.A. en las diferentes especies.

Dentro del contexto general de la I.A., el mayor progreso se ha producido en la técnica de I.A. en bovinos, donde los éxitos alcanzados por la posibilidad de dilución del semen y su conservación por congelación profunda, han contribuido especialmente al desarrollo de la I.A. en esta especie (150). Gracias a tal progreso técnico, la I.A. ejerce actualmente un papel primordial en la evolución y promoción de las razas bovinas selectas.

La importancia de la I.A. en el desarrollo ganadero, está determinada por su incidencia favorable sobre tres aspectos fundamentales: zootécnico, económico e higiénico (168) de todos conocidos. De igual forma cabe destacar a la I.A. como un método de investigación muy apreciado en el conocimiento de la reproducción.

Según datos aportados por NISHIKAWA (221), el número total de animales inseminados artificialmente en el mundo, por año, asciende a 58.758.667, distribuidos por zonas geográficas de la siguiente manera:

Europa	26.723.663
URSS	18.680.000
América del Norte	8.739.531
Asia	2.517.283
América Central y del Sur	1.256.212
Oceanía	808.000
Africa	33.978

Del censo total de ganado vacuno inseminado artificialmente puede estimarse (168, 5) que en Europa se realiza del 30 al 40 %, en la URSS el 30 %, y el 15 % en Estados Unidos, ocupando el resto del mundo un 1%.

El porcentaje de ganado vacuno inseminado artificialmente por países varía ampliamente, de tal forma que hay países –como Dinamarca, Israel y Japón– cuyo porcentaje supera el 90 % del censo ganadero total. Ello demuestra que la mayoría del ganado vacuno ha sido reproducido por I. A. en estos países. Entre los países que alcanzan tasas superiores al 50 % se encuentran: Checoslovaquia, Hungría, Bulgaria, Gran Bretaña, Alemania Oriental, URSS, Suiza, Francia, Finlandia, etc. El resto de los países, en general, alcanzan porcentajes entre el 30 y 50 %.

En una encuesta mundial llevada a cabo recientemente, BONADONNA (36) recopiló datos de 52 países. De dichos datos se deduce que más de 88 millones de bóvidos se habían sometido a I.A. en 1970. A esta cifra, Europa (comprendida la URSS), los EE.UU. el Canadá, Nueva Zelanda, Australia y Japón, aportaron 73 millones y el resto del mundo 15 millones. El autor indica que su encuesta es incompleta y que eran varios los países de los cuales no se había recibido información. Calculándose por tanto que el número total de vacas y búfalas inseminadas artificialmente en todo el mundo sobrepasaba los 120 millones al año.

En España, según las últimas cifras publicadas por el Ministerio de Agricultura (151), son inseminadas artificialmente 506.584 reproductoras al año. Esta cifra supone un 26,23 % sobre el censo total de reproductoras bovinas del país.

Ahora bien, los resultados obtenidos con la aplicación de la I.A. podrán ser ampliados y mejorados a medida que se alcance un mejor conocimiento de la propia fisiología del semen, composición, posibilidades de dilución y conservación «*in vitro*» de su capacidad fertilizante.

Estudios efectuados sobre el semen de mamíferos (82, 29, 217), indican que algunas sustancias esenciales se pierden cuando se diluye el esperma. Tales pérdidas, pueden ser en parte contrarrestadas por la adición de iones potasio al diluyente (217, 30), de plasma seminal, o de ciertos componentes de gran peso molecular como estipula CHANG (58), WALES y WHITE (213) también encontraron que la viabilidad de espermatozoides de perro, cuyo esperma había sido diluido, depende de la presencia de proteínas (globulina bovina, caseína, albúmina de huevo) y alanina, y que en presencia de estas sustancias, disminuyen los efectos perjudiciales de la dilución.

En estos últimos años, se ha comprobado la presencia de prostaglandinas (PGs) en el esperma de casi todos los mamíferos (126, 97, 87); sustancias de las cuales los más recientes trabajos están demostrando su trascendental implicación en los procesos reproductivos. Dichas PGs, como consecuencia de la dilución seminal, quedarían muy reducidas en su concentración, máxime te-

niendo en cuenta la pequeña proporción en que se encuentran en el esperma. Reducción que podría agravarse durante el proceso de la congelación –por su destrucción–, como últimamente han demostrado HILARY, BRUMER y GILLESPIE (108).

Dado por otro lado que la motilidad y vitalidad espermáticas post-descongelación, son dos factores importantísimos para la estimación del poder fecundante, y aunque es preciso tener en cuenta que motilidad y vitalidad no son sinónimos de fertilidad, existe, sin embargo, una estrecha correlación entre las tres características citadas. Correlación que es utilizada de forma universal para estimar a priori el poder fecundante del esperma (55).

Por todo ello hemos decidido llevar a cabo este trabajo de investigación, en el que se pretende comprobar la acción de las prostaglandinas sobre la motilidad y supervivencia del semen descongelado de toro, añadidas en el momento de su descongelación, estudio que hasta la fecha no se ha realizado en el esperma congelado de ninguna especie y que consideramos previo y necesario en el actual contexto de los estudios sobre I.A. encaminados a incrementar los índices de fertilidad de este método.

2. SITUACION BIBLIOGRAFICA

2.1. Esperma de toro e Inseminación Artificial (I.A.):

Existe un gran número de publicaciones acerca del esperma bovino, en comparación con el de otros animales. Este número se vio incrementado marcadamente a partir de los trabajos de POLGE y ROWSON en 1952, como ya se ha señalado en la introducción. Posteriormente a partir de 1966, fecha en que comienza un gran desarrollo del uso de semen congelado de toro, estas publicaciones sobre el esperma bovino han rebasado los límites en principio imaginables.

El uso de semen congelado de toro en I.A., no es todavía rutinario en la mayoría de los países, si bien, la tendencia actual es la de suprimir la utilización del semen refrigerado sustituyéndolo por el congelado.

En España, en el año 1970, la utilización de semen congelado representaba solamente un 19.2 % de las vacas inseminadas (160); en la actualidad se ha incrementado considerablemente, existiendo provincias, como la de León, donde a partir de marzo de 1975 (145) se insemina exclusivamente con esta clase de semen.

Dentro de la problemática de la I.A., una de las principales preocupaciones, es la de alcanzar un medio de dilución realmente idóneo, dada la importante acción que ejerce sobre las células espermáticas desde el punto de vista de su conservación y mantenimiento del poder fecundante (186).

Una de las primeras investigaciones importante en este sentido se debe a PHILLIPS en 1939 (171), el cual demuestra el efecto beneficioso de la yema de huevo sobre la conservación espermática. Un año más tarde PHILLIPS y LARDY (172) dan a conocer un diluyente, a base de fosfato-yema, que logra conservar la motilidad de los espermatozoides durante ciento ochenta horas a 5°C. En 1941 SALISBURY et. al. (188) proponen un nuevo diluyente a base de citrato-yema, que conserva, por un período aún mayor, la motilidad.

Las investigaciones sobre medios de dilución se continúan: MANN (1945) (143), SWANSON (1949) (201), STEWART et. al. (1950) (199). MICHOJLOV en 1950 (149) demuestran el efecto beneficioso de la leche en los medios de dilución espermática. Más tarde TRACKER y ALMQVIST en 1953 (207) comprueban que la leche descremada y homogeneizada aumenta el tiempo de motilidad, en comparación con la leche normal. FLECHINGER en 1953 (92) utilizando un diluyente a base de leche y citrato-yema, en proporción de 1 : 3, obtiene un 63.5 % de fertilidad. FLIESE et. al. en 1954

(93) estudian las sustancias tóxicas que pudieran existir en la leche no calentada sobre la conservación de los espermatozoides, encontrando la lectenina y la lactoperoxidasa. Posteriormente SIKES y MERILAND en 1958 (190), con un medio de diluyente a base de yema de huevo, glicerol y leche descremada tratada por el calor, encuentran que la motilidad de los espermatozoides duraba veinticinco días. ERICKSON y GRAHAM en 1959 (84) empleando diferentes diluyentes, llegan a la conclusión de que los mejores medios de dilución son aquéllos a base de citrato-yema-leche. ALMQVIST en 1962 (8), por su parte, estima como mejor diluyente el compuesto de leche y glicerol. RAJAMANNAN et. al. en 1964 (182) proponen el diluyente Minnesota GO, compuesto a base de siete glucidos, citrato sódico, ácido cítrico, glicerol y yema de huevo, aunque BENSON et. al. en 1967 (18), encuentran mejores resultados con citrato-Tris. Recientemente CASSOU en 1974 da a conocer los satisfactorios resultados obtenidos con el diluyente industrial denominado LAICIPHOS 217 y 470, a base de leche descremada en polvo y fosfatos.

Es conocida la preocupación constante de los investigadores, tratando de conseguir la conservación indefinida, o al menos a largo plazo, del poder fecundante del esperma. En tal sentido y como método más importante, se ha desarrollado la conservación a bajas temperaturas. Las metas alcanzadas con la técnica de congelación profunda, en nitrógeno líquido a -196°C, preconizada actualmente, son consecuencia de numerosas experiencias y trabajos de investigación.

Los primeros estudios con vistas a proteger a los espermatozoides de las bajas temperaturas datan de 1946, año en que ROSTRAND (183) utiliza por primera vez el glicerol a tal fin. En 1949 POLGE et. al. (176) demuestran que el glicerol es el menos tóxico de los polialcoholes, como protectores del esperma humano sometido a congelación. Poco tiempo después POLGE y ROWSON en 1952 (177) comprueban la acción protectora del glicerol en la congelación del esperma de toro. A estos trabajos iniciales, se han sucedido otros, entre los que destaca los de HOLT en 1953 (111), PARKES en 1956 (166) y ALMQVIST y WICKERSHAM en 1962 (9). Como consecuencia de todos estos trabajos, el glicerol ha venido a constituir un elemento fundamental en los menestrilos de dilución del semen, con vistas a protegerle frente a la congelación y poder mantener así su viabilidad a largo plazo.

Paralelamente, las técnicas de congelación y la temperatura de almacenamiento del semen congelado, ha evolucionado enormemente desde sus comienzos. La primera referencia que existe sobre la congelación de esperma es el trabajo de DAVENPORT en 1897, usando para su experiencia semen humano, que congeló a -17°C. En los primeros tiempos de la congelación de semen, el método utilizado era la mezcla de hielo seco y alcohol, conservándose así los espermatozoides entre -76°C y -79°C. LUYET y HODROP en 1938 (141) desarrollan el método de congelación con nitrógeno líquido, que según los trabajos de ELLIOT et. al. en 1954 (79), LARSON y GRAHAM en 1958 (132), y PICKETT et. al. en 1960 (173), tienen numerosas ventajas (más económico y cómodo) frente al método de hielo seco inicial, además de conservar la vitalidad espermática por plazo muy superior. En el momento actual, y avalado por múltiples trabajos experimentales, el método usado de forma general para la conservación del esperma de toro, es el de congelación profunda a -196°C mediante nitrógeno líquido.

En la evaluación «in vitro» del poder fecundante del semen congelado de toro, se acepta universalmente el examen de la motilidad del mismo. Esta conclusión está basada en numerosos estudios sistemáticos (38, 27, 36, 28, 99, 98, 153, 70, 200) existentes al respecto.

Entre las diversas aplicaciones de los tests de motilidad del esperma congelado, se encuentran:

1.º) Evaluación de los efectos de congelación, y valoración de la aptitud de congelación del semen de los diferentes toros utilizados como padres.

2.º) Estudios tecnológicos encaminados a evaluar la superioridad de los diferentes tratamientos existentes para conseguir la congelación espermática.

3.º) Evaluación de la fecundidad del esperma congelado.

Se ha llegado a establecer una ecuación de la fertilidad en la que la fertilidad es función de las características cinéticas del esperma (70). Incluso se han realizado apreciaciones tan sutiles como las de GLOKJUS (96) el que encuentra una relación entre un cierto tipo de apreciación cinética espermática –movimientos de retroceso–, con la fertilidad.

Por todo ello se admite en la actualidad de una forma generalizada, que la motilidad espermática es el principal parámetro en el que se basa la apreciación «in vitro» y a priori de la fertilidad del semen congelado de toro.

A pesar de todas las investigaciones realizadas sobre medios de dilución, técnicas de congelación, etc., las tasas de fertilidad obtenidas mediante el empleo de semen congelado, no son todavía todo lo satisfactorias que cabría desear; NISHIKAWA (160), después de un estudio de las tasas de fertilidad obtenidas en distintos países, afirma que éstas varían notablemente según diversos factores, entre los que se encuentran: el propio seminal, técnica de dilución, congelación y conservación espermática, estado de la vaca al ser inseminada, etc. LAUDERDALE y FARHO (1976) (133) resaltan el interés del hecho de que el porcentaje de gestaciones después de una sola inseminación en el ganado vacuno, con semen congelado, es del 58 %, lo que en su opinión significa que todavía queda mucho trabajo por realizar con vistas a aumentar esta tasa de fertilidad.

En la provincia de León, en el Circuito de I.A. bovina Porma-Curueño, en el período de mayo a noviembre de 1975, en el que se emplearon mini-pajuelas elaboradas tal y como son empleadas en este trabajo y con los mismos toros, en un total de 4.425 vacas inseminadas, la tasa de fertilidad en la 1.^a inseminación fue del 51,28 % (34).

Es necesario pues, seguir investigando sobre la fisiología del esperma y todas aquellas técnicas que implica la I.A., para que en un futuro próximo podamos ampliar y mejorar sus resultados.

2.2. Prostaglandinas en general:

Como ya indicamos en la introducción, en estos últimos años, se ha comprobado la presencia en el semen de unas sustancias de gran importancia, entre otros, en los mecanismos de reproducción, denominadas prostaglandinas.

La historia de las prostaglandinas (PGs) comienza a principios de la década de los años 30 cuando dos ginecólogos en Nueva York, los doctores KURZORK y LIEB (126), descubrieron que el semen humano producía relajación o contracción de segmentos aislados de músculo uterino humano. Posteriormente, y en la misma década, GOLDBLAT (97) en Inglaterra y VON EULER (87) en Suecia, publicaron sus estudios acerca de la sorprendente actividad biológica del plasma seminal humano y de extractos de vesícula seminal de carnero, sobre la musculatura lisa. Ambos autores, independientemente, llegaron a la conclusión de que las propiedades biológicas objeto de sus estudios, no podían ser explicadas con los conocimientos que poseían hasta el momento. VON EULER encontró efectos similares utilizando plasma seminal de mono, morocho y macho cabrío, así como extractos de vesículas seminales de morocho, descubriendo que dicho efecto estaba asociado a la fracción que contenía los ácidos grasos solubles en éter y alcohol, denominando a estos compuestos por primera vez (1935) con el nombre de *prostaglandinas*, por creer que procedían de la próstata (88).

Las investigaciones sobre las PGs quedaron interrumpidas por la 2.^a Guerra Mundial, y durante casi 20 años después de su descubrimiento, fueron totalmente olvidadas. No obstante, VON ELLER mantuvo su interés en este campo, y en los comienzos de la década de los 50 alentó a SUNE BERGSTROM para que continuase las investigaciones con vistas a purificar y determinar la estructura de las PGs. Las investigaciones de BERGSTROM (20, 21, 22, 23, 24, 25, 26) y cols., concluyeron en el aislamiento y determinación de la estructura de las PGs, gracias fundamentalmente al desarrollo que habían tenido las técnicas isotópicas, cromatográficas y de espectrofotometría de masas.

Un hecho importante dentro de la historia de las PGs, lo constituye los trabajos de COREY y cols. (54) que en 1970, logran por vez primera la síntesis total de las PGs F_{2a} y E₂. A partir de este momento, comienzos de los años 70, se produce un tremendo impulso en el estudio científico hacia el conocimiento de las acciones de las PGs, llegando en la actualidad a producirse una media de publicaciones relacionadas con las PGs de 2-3 trabajos diarios. Es significativo el hecho de la aparición de una revista científica dedicada exclusivamente a las PGs, titulada PROSTAGLANDINS, aparecida en 1972, que en un principio tuvo carácter mensual, pero que en la actualidad es quincenal.

Químicamente, las PGs son ácidos carboxílicos de 20 átomos de carbono, con un «esqueleto estructural» semejante al de un hipotético compuesto matriz denominado ácido prostanoico, el cual está formado por un anillo o cadena cerrada pentacarbonada y dos cadenas laterales alifáti-

cas. Esta estructura es común para todas las PGs naturales, difiriendo entre ellas por la distinta constitución del anillo y de las cadenas laterales, así como por el grado de insaturación. Los átomos de carbono se numeran según su precursor básico, como se indica en la Figura 1.

Todas las PGs poseen un grupo OH en el C₁₅ y un doble enlace entre el C₁₃ y C₁₄. Se distinguen cinco grupos de PGs, designados por las letras A, B, C, E y F, cada uno de los cuales

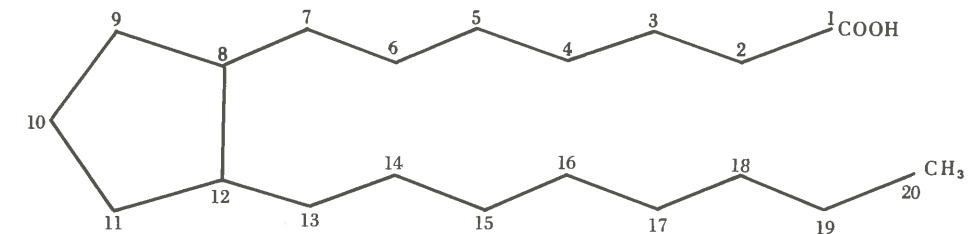


Fig. 1.-Numeración de los átomos de carbono del ácido prostanoico.

corresponde a una estructura del anillo pentánico diferente (124, 178, 193) como se indica en la Figura 2. Dentro de estos grupos, y atendiendo al número de dobles enlaces de las cadenas laterales, se establecen subgrupos o clases, que se especifican mediante un número -1, 2, 3- colocado al pie del símbolo general del grupo a que pertenecen.

Las series prostaglandínicas pertenecientes a los grupos F y E, se denominan primarias, siendo las de mayor actividad biológica. Las del grupo F se caracterizan por tener dos grupos hidroxilo en el anillo pentánico, uno en el C₉ y otro en el C₁₁, y las del grupo E por tener un grupo hidroxilo en el C₁₁ y otro catiónico en el C₉. La serie A es consecuencia de la deshidratación de las del grupo E (desaparición del hidroxilo del C₁₁) y formación de un doble enlace entre los carbonos 10 y 11. Las series B y C son isómeros de las PGs A. La introducción de un oxhidrilo en el C₁₉ de las distintas PGs, da lugar a un nuevo grupo denominado de las 19-HIDROXI-PROSTAGLANDINAS (19-OH.PG).

En 1971 RABINOWITZ et al. (179) ponen de manifiesto la importancia de la conformación espacial y especialmente la orientación de los grupos OH en los carbonos 11 y 15 de la estructura de las PGs, relacionándola con la actividad de las mismas.

Desde los trabajos de DAVID A. VON DORP et al. (69) y de BERGSTROM et al. (20, 21, 22), se sabe que los precursores de las PGs son los ácidos grasos dihomo-*y*-linoléico, araquidónico y *cis*-eicosapentanoico, los cuales a su vez derivan del ácido linoléico. Las series primarias (E y F) se formarían de la siguiente manera: a partir del ácido dihomo-*y*-linoléico las PGs E₁ y F₁, del araquidónico la E₂ y F₂, y del eicosapentanoico se forman la E₃ y F₃.

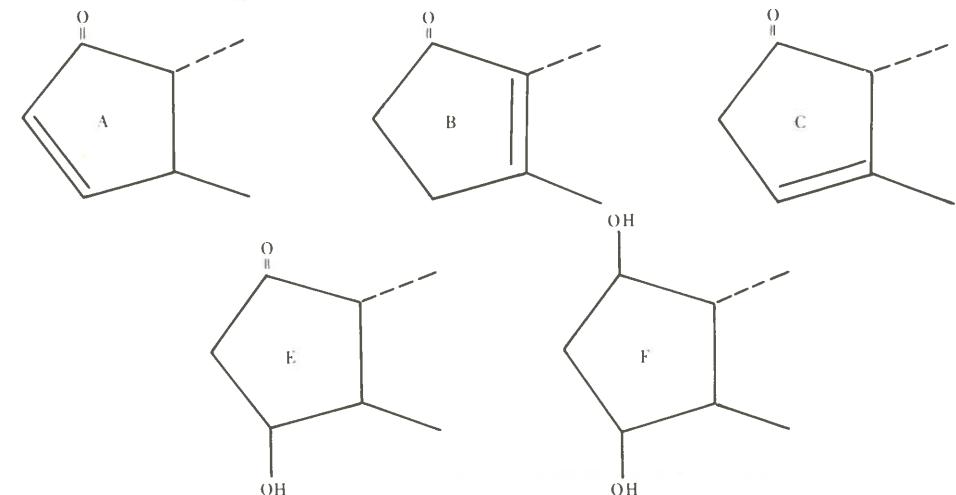


Fig. 2.-Estructura del anillo pentánico de los diferentes grupos de prostaglandinas.

Actualmente KARIM (124) ha establecido una línea de biosíntesis para las 17 PGs conocidas, a partir del ácido linoléico que recogemos en la Figura 3.

La biosíntesis de las PGs depende de un sistema multienzimático, llamado prostaglandin-sintetasa (PS), mal conocido todavía en sus detalles, que parece obrar en los distintos órganos y tejidos de forma muy semejante. No se conoce el número de enzimas que integran este sistema PS, por lo que no se han podido individualizar las etapas por las que los precursores van dando lugar a las PGs.

La liberación de PGs por un tejido, producida tras estimulación nerviosa u hormonal, viene precedida por su síntesis, rapidísima, a partir de los ácidos grasos precursores, los cuales no se encuentran en estado «libre» en las células, sino formando parte de los fosfolípidos de la membrana celular. Por lo tanto un paso previo para la síntesis de PGs es la liberación del precursor correspondiente, lo cual se efectúa mediante la actuación de la fosforilasa-A sobre los fosfolípidos, a dicha fosforilasa-A se la considera como agente de «puesta en marcha» del complejo multienzimático PS. Este complejo parece localizarse preferentemente a nivel de los microsomas, aunque también se han encontrado pequeñas actividades PS en las mitocondrias.

El metabolismo de las PGs es extremadamente rápido, su vida media se estima en menos de un minuto (216). Se encuentra regido inicialmente por dos enzimas: PG-dehidrogenasa, que oxida al grupo hidroxilo del C₁₅, y PG-reductasa, que reduce el doble enlace existente entre el C₁₂ y el C₁₄. Ambos enzimas se encuentran en todos los tejidos, aunque algunos, como el pulmón, bazo y riñones, contienen cantidades considerablemente mayores que el resto del organismo. Los pulmones forman la más eficiente barrera frente a las PGs, dado que en un solo paso a través de ellos se destruye el 90-95 % de las PGs E y F (175), si bien las PGs A escapan en un 60 % a esta degradación. Los productos resultantes de las primeras fases metabólicas, mediante la b-oxidación y la w-oxidación hepáticas, dan lugar a compuestos binarios y cuaternarios, así como ácidos carboxílicos y alcoholes pentacarbonados.

La localización y distribución orgánica de las PGs, resultó extremadamente complicada de precisar en un principio, toda vez que las PGs en condiciones fisiológicas se encuentran en concentraciones muy bajas (10^{-9} a 10^{-7} M.). Se ha demostrado, gracias a modernos métodos analíticos, actividad prostaglandinica en numerosos tejidos y líquidos orgánicos. (Cuadro n.º 1).

Las PGs intervienen en multitud de procesos, tanto fisiológicos como patológicos. Como quiera que la bibliografía es muy abundante, y dado que nuestro objetivo fundamental está centrado en el estudio de la intervención de las PGs en la reproducción, el resto de las intervenciones fisiológicas de las PGs las esquematizamos en el Cuadro n.º 2. De igual forma, resumimos en el Cuadro n.º 3 las variaciones de la concentración de PGs según diversos estados patológicos.

Antes de pasar a describir los papeles que juegan las PGs en la reproducción, queremos hacer

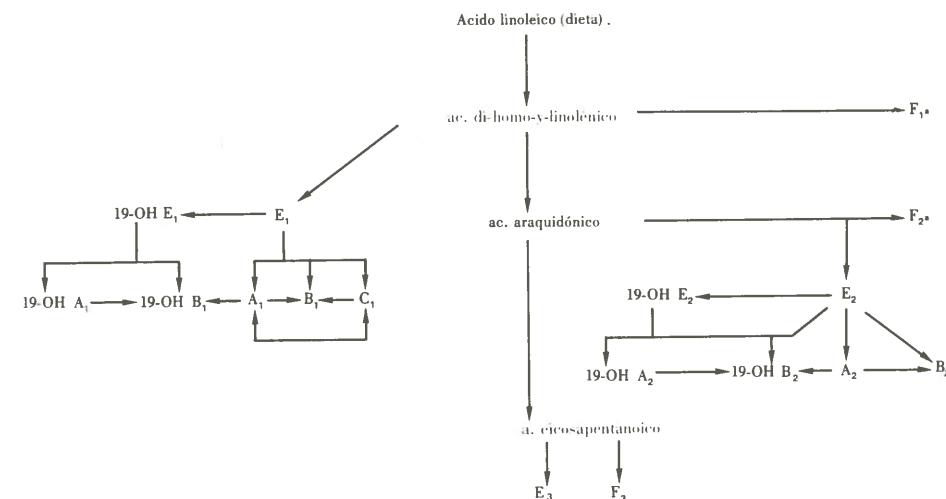


Fig. 3.-Representación esquemática de las líneas de biosíntesis de las 17 prostaglandinas conocidas actualmente, a partir del ácido linoleico. Tomado de KARIM (124).

CUADRO N.º 1
Tejidos con actividad PROSTAGLANDINICA y tipo de PGs identificadas en cada uno de ellos, según diferentes especies. Tomado de MOGISSH-MURRAY (155)

Tejido	Especie	Tipo de prostaglandina						
		A ₁	A ₂	B ₁	E ₁	E ₂	E ₃	F _{1a}
F _{2a}								
Liq. menstrual	M						+	+
Liq. parto	M							+
Liq. amniótico	M				+	+	+	+
Endometrio	M					+	+	+
Cordón umbilical	M					+	+	+
Decidua	M				+	+	+	+
Tiroides	H					+	+	+
Médula adrenal	H					+	+	+
Pulmón	Cr-H-Cy-Cd				+	+	+	+
Liq. seminal	H-C-Cy-Cr-Cd			+	+	+	+	+
Vesícula seminal	Cr				+	+	+	+
SNC	C					+	+	+
Riñón	Cy					+	+	+

M: Mujer
H: Humano
C: Conejo
Cy: Cobayo
Cr: Carnero
Cd: Cerdo

mención al hecho de que recientemente la Imperial Chemical Industries, ha obtenido por síntesis unos análogos prostaglandinicos, entre los que destacan por su importancia el ICI 80996 (cloprostenol), el ICI 81008 (fluprostenol) y el ICI 79939. Estos análogos se caracterizan por poseer una actividad biológica mucho más potente que las propias prostaglandinas (incluso hasta 200 veces) y por carecer de efectos secundarios -o ser estos mínimos-, por lo que el porvenir de estas sustancias como sustitutivos de las prostaglandinas naturales y sintéticas es muy prometedor.

CUADRO N.º 2
Resumen de las intervenciones más importantes de las PGs en el organismo, con excepción de las acciones sobre la reproducción. Tomado de KARIM (124)

Efecto	Prostaglandinas	Bibliografía
Sistema nervioso central	E, F	(115)
Presión intraocular	E	(73)
Broncodilatación y broncoconstricción	E, F	(56)
Efectos cardiovasculares	E, A, F	(158, 123)
Secreción y motilidad gastrointestinal	E, F	(17, 214)
Función pancreática	E	(219)
Natriuresis, diuresis, flujo sanguíneo renal	E, A	(134)
Inhibición de la agregación plaquetaria	E	(154, 218)
Procesos inflamatorios	E, F	(211, 192)
Glándulas endocrinas y efectos sobre AMP cíclico	E, F	(110)
Neurotransmisión	E, F	(107)
Metabolismo lipídico	E	(165)

CUADRO N.º 3

Estados patológicos que cursan con cambios en la liberación de prostaglandinas.
Tomado de NAKANO (144)

Sistema	Incremento de PGs	Disminución de PGs
General	Tumores malignos, sepsis, fiebre, traumatismos, quemaduras, shock.	Deficiencias de A. G. E. Malnutrición, Aspirina e Indometacina.
Sistema nervioso central	Fiebre, hemorragia subaracnoidea. Embolia, hemorragias y traumatismos cerebrales.	
Cardiovascular	Hipertensión pulmonar. Colapso circulatorio.	
Respiratorio	Asma bronquial (F_{2a}) Broncoespasmo anafiláctico. Embolia pulmonar. Pneumonía.	
Gastrointestinal	Diarrea debida a infecciones (cólera). Gastritis, Obstrucción intestinal.	Hiperacidez. Ulcera péptica. Constipación.
Renal	Hipertensión esencial y renovación. Isquemia renal.	
Hematológico	Tromboembolismo (PG E ₂). Policitemia. Leucocitosis.	
Reproductivo	Aborto habitual. Dismenorrea. Endometriosis. Parto. Artificios intrauterinos.	Inercia uterina. Esterilidad. Histerectomía. (Pseudogestación).
Endocrino y metabolismo	Hiperfunciones endocrinas. Obesidad.	Hipofunciones endocrinas.
Musculoesquelético y cutáneo	Artritis. Inflamación y alergia.	Deficiencias. Dermatitis.
Ojos	Glaucoma. Lesión ocular Uveitis.	
Dental	Gingivitis. Abscesos periodontales.	

2.3. Las Prostaglandinas en reproducción:

En los mecanismos reproductivos, las PGs se han revelado tan importantes como lo son los factores hipotalámicos o las hormonas esteroideas. Dichas PGs han explicado numerosos aspectos de la reproducción que estaban oscuros. No obstante, debemos destacar, que serán necesarias todavía numerosas investigaciones para llegar a comprender con toda claridad el papel que las PGs juegan en los diversos procesos orgánicos en que intervienen. Por lo que respecta a la función reproductora, es probable que las PGs intervengan en la ovulación, toda vez que la administración de inhibidores de su biosíntesis, drogas tipo Aspirina e Indometacina (210), bloquean la ovulación en la rata (10) y en coneja (161, 162); aunque POYSER (178) es del parecer de que estos efectos de bloqueo no podrían ser tomados como una prueba absoluta de la intervención de las PGs en la ovulación, dado que dichas drogas inhiben diversos enzimas orgánicos.

Estudios recientes de LEMARIE y cols. (136, 220), han comprobado cómo las concentraciones de PGs E y F en los folículos de la coneja, aumentan significativamente después de la administración de LH ó HCG ó tras el coito, aumento que para la PGF_{2a} se mantienen hasta producirse la ovulación, mientras que la PGE₂ continúa aumentando hasta unas horas después.

En este sentido es interesante el trabajo de OLMEDO (162), al cual mediante inyección intravenosa de PGF_{2a} en conejas, provoca la ovulación, incluso en aquéllas que han sido histerectomizadas o tratadas con Indometacina. Llega a la conclusión de que debe existir un cierto sinergismo entre la LH y la PGF_{2a} en la inducción de la ovulación.

A pesar de estos trabajos y otros muchos realizados con respecto a este tema (61, 33, 32, 208), el mecanismo por el cual las PGs intervienen en la ovulación no está todavía suficientemente aclarado.

Otro proceso reproductivo de especial importancia, en el cual están implicadas las PGs, es la luteolisis. En 1923 LOEB demostró que era necesario la presencia del útero, para que se produjera la regresión del Cuerpo Lúteo del cobaya (139). La importancia del útero a este respecto se ha demostrado en otras especies (oveja, vaca, cerda, rata, coneja y hamster), no sólo para la regresión del cuerpo lúteo de ciclo, sino también para los de pseudogestación, en aquellas especies que la presentan (45).

En un principio se estableció que un factor luteolítico era producido por el útero, llamado por McCracken y CALDWELL (1969) (147, 44), «luteolína uterina» y que sería la responsable de la regresión del cuerpo lúteo. Ya a partir de 1969 comienza a entreverse la posibilidad de que las PGs, y más concretamente la PGF_{2a} fuese en realidad el factor luteolítico uterino (169). En la actualidad se ha identificado la PGF_{2a} como el factor luteolítico uterino en numerosas especies de mamíferos no primates, como los bóvidos (131, 137, 140, 146, 185), cobaya (31, 32), coneja (46, 100, 161, 162, 163), hamster (101, 128), óvidos (45, 62, 145, 203, 204, 205, 206), rata (4, 3, 127, 169, 170, 212) y yegua (7.222).

Sobre la implantación embrionaria, WEEKS (215) señala que las PGs poseen un efecto negativo, en el sentido de que impiden la implantación. Posteriormente otros trabajos (31, 45) ratifican la afirmación de WEEKS, aunque ninguno de ellos establece qué tipo de PGs ni en qué condiciones ejercen el efecto antifertilidad.

Estudios realizados en nuestro Departamento (1, 2, 3), en la rata, atribuyen dicha capacidad antiimplantación, concretamente de la PGF_{2a} a una doble acción, luteolítica y estimulante de las contracciones uterinas. CHANG y HUNT (47) en la coneja, demuestran que una dosis de 1 mg de PGF_{2a} por Kg de peso vivo, durante 4 días después del coito, no inhibe la implantación ni el desarrollo fetal, sin embargo duplicando la dosis, produce una degeneración de los blastocistos como consecuencia del efecto luteolítico o probablemente debido a su movilización.

Si bien es cierto que las PGs administradas en el momento de la implantación tienen un efecto antifertilidad, no es menos cierto que las PGs endógenas son necesarias no sólo para la implantación (4), sino también para el posterior desarrollo embrionario (161), toda vez que la administración de inhibidores de la síntesis de PGs en la época post-coital en la ratona, coneja y rata (4) producen un efecto antifertilidad, posiblemente determinado por una alteración de la motilidad de las trompas de Falopio o un fallo en la respuesta decidual (47).

Otra faceta, desde el punto de vista de la reproducción, en la que también se han comprobado efectos de las PGs, es su acción sobre los vasos umbilicales. KARIM (119) en 1967 detecta la presencia de PGs E₁, E₂, F₁ y F₂ en los vasos del cordón umbilical humano. En un trabajo

posterior (109) propone que las PGs en el cordón umbilical juegan un papel fisiológico en el cierre espontáneo de los vasos, después de ocurrido el parto. Esta misma acción es ratificada por DYER (72) en la oveja. Aparte de esta función constrictora tras el parto, parece ser que las PGs intervendrían regulando el flujo sanguíneo umbilical y también en los cambios circulatorios del recién nacido (14).

Sabemos que en el parto influyen multitud de factores. Según las últimas investigaciones, parece ser que las PGs, especialmente la E_{2a} y E_2 , intervendrían también en el desencadenamiento del mismo. La posible implicación en el parto de las PGs ha sido objeto de múltiples investigaciones, especialmente en la especie humana. Ya KARIM en 1968 (121), estableció que, en la mujer, durante el parto, se produce un aumento de los niveles de PGs en la sangre venosa periférica, aumento que se relacionó con el incremento de contracciones uterinas. Otros autores también han demostrado este efecto en la sangre periférica de la coneja (138) y de la cabra (63), en el momento del parto. KARIM y DEVLIN (120) encuentran que en el líquido amniótico antes del parto sólo se detecta E_1 , mientras que durante el parto contiene E_{2a} , E_2 , E_1 , y F_1 . Así se ha podido comprobar que la PGF_{2a} induce al parto en la mujer (15, 41, 122, 157, 181, 184), cabra y oveja (57, 138, 205), cerda (66), gata (156) y vaca (222), existiendo experiencias sobre la acción inductora del parto de la PGE_2 en la mujer (15, 81, 135, 184) y en la vaca (222).

A pesar de todo ello, debemos destacar, que la acción inductora del parto por parte de las PGs, precisa todavía de futuras investigaciones ya que aún no se domina totalmente esta acción, existiendo además claras diferencias con respecto a distintas especies. Así se puede comprobar que en la coneja las PGs han sido incapaces de estimular las contracciones uterinas, incluso a grandes dosis (194, 138), al igual que en la rata, usando tanto E_{2a} como E_2 en el momento del parto (94).

En esta misma línea las PGs se han empleado para inducir al aborto en la mujer (71, 95), considerándose que la E_2 produce una menor incidencia de efectos colaterales.

La primera referencia bibliográfica referente a la posible acción de los PGs sobre los oviductos data de 1947, fecha en que ASPLUND (11) administrando un extracto con actividad prostaglandínica a la coneja, provocaba una disminución en el tono y amplitud de las contracciones de los oviductos. Desde entonces hasta nuestros días, después de numerosas investigaciones llevadas a cabo en dicha especie (26, 47, 59, 60, 113, 114, 78, 196, 195, 136), se ha llegado a la conclusión de que la PGF_{2a} aumenta la frecuencia y amplitud de las contracciones del oviducto, llegando incluso a provocar una contracción espasmódica del oviducto. El aumento de la motilidad provocaría una aceleración del transporte ovular, mientras que el espasmo tubárico daría como consecuencia una retención ovular. Un papel contrario tiene la E_2 , toda vez que en la coneja inhibe la motilidad tubal y provoca una relajación del istmo (113, 114). Asimismo LABISETWAS (129, 130), en la rata comprueba que la E_2 provoca también un retraso en el transporte ovular, mientras que en la coneja y unida a la E_1 anula por completo la motilidad tubal.

De lo dicho anteriormente, se desprende que la acción de las PGs E y F sobre el oviducto, es antagonista, pero en cierto modo complementaria, permitiendo un transporte normal de los óvulos fecundados a través de los oviductos hacia el útero.

No obstante, parece ser que la acción de las PGs sobre el oviducto y en consecuencia sobre el transporte ovular, dependería del tipo de PG, de la especie, del segmento tubal y del estado fisiológico correspondiente en que se encuentre la hembra, dentro del ciclismo sexual (196, 195).

Es paradójico pensar cómo habiendo sido en el semen donde se descubrieron las PGs (126, 97, 87) y estando demostrado que, dentro de los líquidos y tejidos orgánicos, es en el semen donde existe una mayor concentración y variedad de tipos de PGs (52, 144), se tenga en la actualidad conceptos tan contradictorios acerca de la significación de las PGs, en las funciones reproductivas del macho.

Ya en un principio se presumía que las PGs presentes en el semen de mamíferos, eran producidas en la próstata, lo cual dio lugar a que se denominasen PROSTAGLANDINAS, sin embargo en 1959 ELIASSON (75) pone en evidencia que estas PGs se originan en las vesículas seminales. Otros autores (19, 118, 37, 64, 12) han demostrado que las PGs pueden ser sintetizadas en otras glándulas accesorias diferentes a las vesículas seminales. También se ha demostrado la síntesis prostaglandínica en testículo de rata macho (49) y testículo de cerdo (80). Aunque parece ser que el testículo humano no las sintetiza, ya que BRUMMER (37) en hombres vasectomizados,

comprueba que la concentración de las PGs tipos E, A y 19-OH no disminuyen en la fracción eyaculada.

Dado que en el semen es donde se encuentran las PGs en mayor número y en más altas concentraciones, siempre se ha pensado que debían tener un claro objetivo en el proceso de la fertilización, aunque hasta la fecha no se haya podido descifrar la misión específica de las PGs en el mismo, por lo que hoy día son numerosas las investigaciones que se están llevando a cabo en este sentido. Así HILARY et al. (108) comprueban mediante espectrofotometría, que hombres infértilles, sin causa aparente de la misma, tenían una menor cantidad de PGs E, A y 19-OH A en el semen que los testigos fértilles, atribuyéndose dicha infertilidad a este hecho. De la misma forma BYGDEMAN et al. (39, 40), encuentran bajos niveles de PGE en el semen de hombres infértilles, cuya causa no se explicaba por ningún otro motivo. Estas experiencias parecen comprobar la imprescindibilidad de la presencia del PGs en el semen humano en relación con la fertilidad.

Sin embargo CENEDELLA et al. (51), administrando aspirina –un inhibidor de la síntesis de PGs (90, 210)– al ratón subfértil, observan una elevación de la fertilidad. Esta aparente discrepancia con respecto a lo que ocurre en el hombre subfértil, se explicaría por el hecho de que la subfertilidad en el ratón está relacionada con un aumento de la concentración de PGs en el semen, especialmente de PGF_{2a} –principal PG sintetizada en el testículo del ratón (48)–, la que en altas concentraciones bloquearía la síntesis de testosterona alterando el mecanismo reproductivo (13).

A conclusiones semejantes llega BADR (12), quien comprueba en el ratón enano infértil una inversión de la proporción PGE/PGF, con respecto a sus congéneres normales.

Todo ello corrobora la idea de que si bien es cierto que existe una estrecha correlación entre fertilidad y PGs seminales, hoy día no se tiene un claro concepto de tal correlación, y que ésta varía según las especies.

Investigaciones llevadas a cabo con intención de aclarar el papel que desempeñan las PGs en la reproducción, han puesto en evidencia diversas acciones sobre el aparato genital masculino y su fisiología, así HAFS et al. (103), encuentran un aumento del volumen espermático en toros y conejos tras la inyección de PGF_{2a} . Al mismo resultado llegan CORNWELL et al. (53) en el caballo.

En esta misma línea JOHNSON et al. (117) comprueban un aumento de contracciones en testículos de conejos «in vitro», mantenidos en una solución que contenía PGF_{2a} . Mas HARGROVE et al. (104) en un experimento similar al anterior, pero utilizando PGE_1 , observaron una disminución de las contracciones testiculares e incluso una anulación cuando se elevaba la dosis. Asimismo se ha comprobado la participación de las PGs en la contractilidad de vasos deferentes y vesículas seminales (198, 202, 116, 102, 209). HUNT y NICHOLSON (116), administrando «in vitro», PGE_1 y PGF_{2a} a conejos, demuestran que el transporte de los espermatozoides a través de su aparato reproductor es ligeramente acelerado.

Se ha estudiado así mismo la acción de las PGs y sus inhibidores sobre el músculo liso de cuerpo cavernoso de pene humano «in vitro» (124) y se ha visto que la aspirina e indometacina, inhiben la actividad espontánea y reducen el tono residual. De la misma forma, añadiendo PGE_1 también se reduce la frecuencia de las contracciones espontáneas y el tono residual, al igual que lo hace la PGE_2 a bajas dosis, sin embargo, ésta a altas dosis tiene un efecto estimulante. Otras PGs testadas (A_1 , A_2 , B_1 , B_2 y F_{2a}) producen un incremento del tono y frecuencia de las contracciones del músculo liso de cuerpo cavernoso de pene humano «in vitro», revelándose la PGF_{2a} como la más estimulante.

Recientemente se ha comprobado la participación de las PGs en la esteroidogénesis masculina, aunque por ahora esta participación no es bien conocida. En este sentido destacan las investigaciones de BARTKE et al. (13) y de SAKSENA et al. (189) los cuales comprueban una disminución de los niveles de testosterona en sangre de ratón, tras la administración subcutánea de PGF_{2a} y PGE_1 . Estas investigaciones se relacionan con las de BADR et al. (12) quienes encuentran un incremento de PGs en los tejidos del sistema reproductor, después de la castración, aunque estos autores admiten la posibilidad de que este incremento en la concentración de PGs pudiera ser debido a una disminución en el peso de dichos tejidos, como consecuencia de la falta de testosterona, lo cual supondría que la relación PGs-testosterona no es necesariamente específica.

La PGE_2 parece tener un efecto positivo sobre la esteroidogénesis –al contrario que las PGF_{2a} y E_1 –, toda vez que EIKNES (74) demuestra cómo la PGE_2 aumenta la síntesis de testosterona de

testículos de perro «in vitro». SKAKKEBAEK et al. (223) en un reciente trabajo publicado en mayo de 1976, pone en evidencia la relación entre las concentraciones seminales de las 19-OH PGs tipo E con los niveles de testosterona en sangre.

Las PGs también se han relacionado con las gonadotropinas hipofisarias, dado que la administración subcutánea de PGF_{2a} así como de E₁ producen una disminución de LH en el plasma sanguíneo de ratón (189). En caso de que dicha administración dure 15 días, las PGF_{2a} y E₁, llegan a inhibir por completo la espermatogénesis produciéndose un descenso del peso de los testículos y glándulas accesorias de rata macho (83). Por el contrario, en conejos, AGMO (6) encuentra un aumento de LH tras la administración de PGE₁ y F_{2a}, llegando a la conclusión de que la E₁ es más efectiva en este sentido que la F_{2a}.

Teniendo en cuenta las relaciones de las PGs con respecto a la testosterona y gonadotropinas hipofisarias, debemos constatar que la bibliografía se presenta confusa y en ocasiones contradictoria, existiendo en todo caso marcadas diferencias entre las distintas especies.

En cuanto a la influencia de las PGs seminales sobre el aparato genital femenino, ya EULER y ELIASSON (89) en 1967 sugieren que las PGs seminales pudieran estar implicadas en el transporte espermático a través del mismo, hasta los oviductos donde ha de producirse la fecundación.

ESKIN y AZARBA et al. (85, 86) encuentran una mejor penetración «in vitro», de los espermatozoides en el moco cervical, cuando al semen se le añadía PGF_{2a} ó E₂, teniendo la E₂ un menor efecto como potenciadora de la penetración que la F_{2a}. Estos autores sugieren que la PGF_{2a} puede tener interés en el tratamiento de ciertos problemas de infertilidad relacionadas con el moco cervical, tales como: incompatibilidad entre espermatozoides y moco cervical, hostilidad idiopática del moco cervical, reducción del poder de penetración de los espermatozoides, y oligospermia.

Es muy interesante el trabajo de MANDL (142), quien inseminando conejas con semen al que previamente añadía E₁, encuentra al cabo de dos horas después de la inseminación un número significativamente superior de espermatozoides en los oviductos de los animales tratados, que en el de los testigos. El mecanismo por el cual la E₁ causa este efecto no es bien conocido. HORTON et al. (113) estipulan que pudiera ser debido a una inhibición del tono del músculo liso en todas las partes del sistema reproductor de la hembra, y en consecuencia producirse una disminución en la presión intraluminal del oviducto.

Se sabe que en la mujer y coneja, la PGE₁ reduce la motilidad espontánea del útero y músculos cervicales (125, 76), y por otro lado estimula la contracción de la parte caudal del oviducto (187). Teniendo en cuenta estos dos hechos, cabe pensar como hacen ELIASSON y POSSE (77), que por efecto de la PGE₁, se crease una succión hacia el oviducto, lo cual explicaría los resultados de MANDL (142). De hecho, un efecto de succión se ha comprobado durante la I.A. en mujeres y yegüa (105), aunque el mismo efecto pudiera no ocurrir en la coneja. De igual forma se ha comprobado «in vivo» en la mujer, que las inyecciones intravenosas de PGE₁, causan una relajación de los músculos circulares del istmo tubálico y reducen la presión intraluminal del oviducto (112).

CHANG et al. (59) encuentran una elevación de las tasas de fertilidad, cuando las conejas eran I.A. con semen al cual se le añadía PGE₁ y PGE₂, pero no cuando se añadía PGF_{2a}. Estos resultados están en contraposición con los obtenidos por SPILMAN et al. (197), toda vez que estos autores encuentran un aumento de la tasa de fertilización en conejas a las que se administraba PGF_{2a} subcutánea o intravaginalmente, en el momento de ser inseminados.

Es una realidad, que las PGs del plasma seminal están de alguna forma, implicadas en el transporte espermático a través del aparato genital de la hembra, sin embargo, se requieren más investigaciones para llegar a conocer con precisión el papel de dichas PGs en este sentido. Debemos hacer constar, que recientemente se ha descubierto un inhibidor de las PGs en semen humano y de morueco, cuya estructura química no es conocida, especulándose que posiblemente actúa regulando la síntesis o acción de las PGs presentes en el semen, bien sea a nivel de la propia fisiología masculina, o sobre la acción subsiguiente de las PGs en el aparato genital de la hembra (67).

BEDFORD (16) llega a la conclusión de que si bien es cierto que la motilidad del tracto reproductivo de la hembra, de alguna manera, interviene en el transporte espermático hacia los oviductos –en cuyo mecanismo parecen estar implicadas las PGs–, no es menos cierto que la propia motilidad de los espermatozoides es también importante. A esta misma conclusión llegan

DANDEKAR et al. (65), toda vez que matando los espermatozoides con formalina, éstos no son transportados a los oviductos después de la I.A.

Se ha negado que las PGs seminales tengan alguna influencia sobre los propios espermatozoides (11, 106, 75) pero no obstante, CABALLERO y PALOMO (43, 42) añadiendo prostaglandinas F_{2a} E₁ y E₂, a semen humano, encuentran que todas ellas producen un aumento del tanto por ciento de formas móviles, así como de la capacidad ascendente de los mismos, con respecto a los testigos. En este sentido CORMWELL et al. (53) también encuentran un ligero aumento de la motilidad progresiva en los espermatozoides de semen de caballos a los que previamente se les habían suministrado PGF_{2a} por vía subcutánea.

Todo lo anteriormente expuesto nos ha inducido al estudio de la influencia de las prostaglandinas sobre la motilidad del esperma congelado de toro, en el momento de su descongelación, como primer paso de nuestros estudios en el intento de contribuir a un mejor conocimiento de la implicación de las PGs en el proceso de fertilización y mejora de los índices de fecundidad obtenidos en la I.A. del ganado vacuno.

3. MATERIAL Y METODOS

En el presente trabajo se han utilizado 1.746 dosis de semen congelado de 15 toros de raza Parda, pertenecientes al Centro Nacional de Selección y Reproducción Animal de León, cuyas edades oscilan entre los 3 y 14 años, de fertilidad comprobada y sometidos a un régimen de recogida de una vez por semana, comprendiendo dos saltos cada una, espaciados 15 minutos. Inmediatamente después de la recogida del semen, efectuada mediante vagina artificial, se procede a su dilución, descenso de la temperatura y congelación, de acuerdo con las normas establecidas en dicho Centro.

El diluyente empleado fue el LAICIPHOS 271 (marca registrada). El envasado del semen se efectúa en mini-pajuelas de polivinilo de 0,25 ml. El título de la dilución es calculado en función de la concentración espermática, de tal forma que cada mini-pajuela contenga de 20 a 25 millones de espermatozoides.

Para efectuar la descongelación de las mini-pajuelas, hemos seguido las normas publicadas por la Dirección General de la Producción Agraria (152), introduciéndolas en agua a 0°C por espacio de dos minutos.

Las PGs utilizadas han sido la F_{2a}, E₁ y E₂, facilitadas por LABS UPJOHN, disueltas de forma conveniente en suero glucosado a tres niveles, de acuerdo con los distintos grupos y subgrupos experimentales establecidos.

Con objeto de establecer la normalidad y aptitud de congelación del semen fresco, en cada recogida y para todos los toros se procedió a determinar su motilidad en masa, individual y concentración, de tal forma que solamente se seleccionó para su posterior congelación el semen fresco que presentaba una motilidad en masa de tres cruces, una motilidad individual superior a 4/5 y una concentración espermática superior a 800.000 espermatozoides por mm³. De igual forma una vez descongelado el semen para destinarlo a nuestro trabajo se seleccionó aquellas mini-pajuelas que presentaban una motilidad en masa de dos cruces o superior y una motilidad individual superior a 3/5.

A partir de las mini-pajuelas descongeladas que reunían los requisitos anteriormente expuestos, y en todos los grupos experimentales establecidos, se procedió a determinar los siguientes parámetros:

MOTILIDAD INDIVIDUAL:

Efectuada en una preparación en «gota pendiente» sobre un porta excavado y llevada al microscopio para su observación a 400 aumentos, dicho microscopio está adaptado con una platina caliente a temperatura constante de 37°C, procediéndose a la valoración de la cinesis individual progresiva de forma porcentual. Según SCIUCHETTI (167) el movimiento progresivo es el que más intimamente relacionado está con la capacidad fecundante del esperma.

TEST DE PROGRESIÓN VERTICAL:

Para su apreciación hemos utilizado la técnica de BOTELLA-CASARES (50). Esta prueba se efectúa en tres modalidades diferentes para cada grupo experimental, dependiendo si la PG se añade al semen y al tubo capilar conjuntamente, o por el contrario se añade solamente al semen o al tubo capilar.

TEST DE PROGRESIÓN HORIZONTAL:

Para la cual hemos seguido la técnica descrita por PÉREZ y PÉREZ (167) y al igual que la anterior se efectúa de tres modalidades.

ÍNDICE DE SUPERVIVENCIA:

Hemos utilizado el método de WALTON (167) manteniendo la muestra a temperatura constante de 20°C y efectuando los controles de la motilidad individual cada 6 horas. Se registran dos parámetros:

Valor T: Tiempo transcurrido desde el comienzo de la prueba hasta la pérdida del movimiento progresivo de todos los espermatozoides.

Valor S: Media aritmética de la motilidad individual apreciada en cada una de las observaciones.

3.1. Grupos experimentales

Para el estudio de la posible influencia de la adición de PGs al semen descongelado de toro, sometido a los controles previos ya descritos, estudio que se realiza mediante las pruebas de laboratorio anteriormente señaladas, se

formaron los siguientes grupos y subgrupos experimentales, en función del tipo y dosis de prostaglandina añadida: (Cuadro n.º 4).

Las dosis utilizadas de las distintas PGs se han establecido teniendo en cuenta la concentración de dichas prostaglandinas en el semen fresco, de mamíferos (180, 193), y las dosis empleadas por CABALLERO y PALOMO (43) al estudiar el efecto de la adición de PGs en semen humano fresco, quienes emplean una relación de dosificación de PG F_{2a} con respecto a las PG E₁ y PG E₂ de 10/1, relación que es precisamente la de su efecto oxitóxico.

GRUPO I: Se añade PG F_{2a} a tres niveles de dosificación, estableciéndose por lo tanto tres subgrupos, en el subgrupo «a» la dosis añadida es de 17,8 mcg por cada muestra de 0,5 ml de semen descongelado. Las dosis de los subgrupos «b» y «c» son doble y cuádruple que la del subgrupo «a» respectivamente.

GRUPO II: Se añade PG E₁, también a tres niveles. En el subgrupo «a» se añade 1,78 mcg por 0,5 ml de semen descongelado, siendo las dosis empleadas para los subgrupos «b» y «c» doble y cuádruple con respecto al subgrupo «a» respectivamente.

GRUPO III: Se utiliza la misma dosificación que en el grupo II pero de PG E₂.

GRUPO IV: Formado por cuatro subgrupos, correspondiendo a las cuatro combinaciones de dosificación posibles de los subgrupos «a» de los tres primeros grupos experimentales (F_{2a} + E₁; F_{2a} + E₂; E₁ + E₂; y F_{2a} + E₁ + E₂).

Las diferentes dosificaciones establecidas eran vehiculadas todas ellas en 0,1 ml de suero glucosado, por lo que al grupo «control» también se adicionaba 0,1 ml de suero glucosado por cada muestra de 0,5 ml de semen descongelado, pero en este caso sin vehicular ningún tipo de prostaglandina.

En las modalidades en que se añade PG al tubo capilar, la concentración era igual que la final en el caso de la adición al semen y del mismo tipo de PG.

3.2. Análisis estadístico

Con objeto de establecer si existían diferencias significativas o no, entre los resultados obtenidos de los distintos grupos experimentales con respecto a los controles, han sido sometidos a un análisis estadístico. En primer lugar, para cada valor medio de los diferentes parámetros estudiados, se calculó el correspondiente «error standard». Posteriormente, las diferencias entre las medidas de los distintos grupos experimentales fueron contrastadas por medio del análisis de varianza, para lo cual se calculó el «valor F» de Fisher en cada grupo, y se estableció el nivel de significación, en los casos en que fue superior al 5 % se halló la «mínima diferencia significativa» (M.D.S.) con objeto de observar las posibles diferencias significativas entre cada una de las medias.

Los cálculos fueron realizados siguiendo la metodología descrita por SNEDECOR (191) y los resultados contrastados en las tablas de FISHER (91).

CUADRO N.º 4

Grupos experimentales establecidos en función del tipo y dosis de prostaglandinas usadas

Grupo	Subgrupo	PG usada	Dosis añadida a las muestras que reciben prostaglandina
I	a	F _{2a}	17,8 mcg/0,5 ml semen descongelado
I	b	F _{2a}	35,6 mcg/ " "
I	c	F _{2a}	71,4 mcg/ " "
II	a	E ₁	1,78 mcg/ " "
II	b	E ₁	3,56 mcg/ " "
II	c	E ₁	7,14 mcg/ " "
III	a	E ₂	1,78 mcg/ " "
III	b	E ₂	3,56 mcg/ " "
III	c	E ₂	7,14 mcg/ " "
IV	a	F _{2a} + E ₁	17,8 mcg de F _{2a} y 1,78 mcg de E ₁ /0,5 ml semen descongelado
IV	b	F _{2a} + E ₂	1,78 mcg de F _{2a} y 1,78 mcg de E ₂ /0,5 ml semen descongelado
IV	c	E ₁ + E ₂	1,78 mcg de E ₁ y 1,78 mcg de E ₂ /0,5 ml semen descongelado
IV	d	F _{2a} + E ₁ + E ₂	17,8 mcg F _{2a} + 1,78 mcg de E ₁ y E ₂ /0,5 ml semen descongelado

4. RESULTADOS

4.1. Grupo I

4.1.a. *Motilidad Individual*.—Como se comprueba en el Cuadro n.º 5 la adición de PGF_{2a} determina, inmediatamente después de añadida y para todos los subgrupos, un incremento de la M.i. con respecto al testigo, si bien las diferencias que se establecen carecen de significación estadística. Por lo tanto la M.i. no es dosis dependiente de la PGF_{2a}, toda vez que el duplicar o cuadruplicar la dosis añadida, no introduce ninguna modificación estadísticamente significativa frente al control y entre los diferentes subgrupos, aunque se constata una tendencia a disminuir la M.i. al aumentar la dosis del PGF_{2a}.

CUADRO N.º 5

M.i. media inmediatamente después de añadir PGF_{2a} en comparación con el control.

Grupo	Motilidad individual (%)
Control	59,5 ± 1,61
Subgrupo I.a	67,0 ± 2,47
Subgrupo I.b	63,7 ± 1,96
Subgrupo I.c	62,9 ± 2,78

4.1.b. *Test de progresión vertical*.—Según se recoge en el Cuadro n.º 6, la adición de PGF_{2a} posee un claro efecto sobre la capacidad ascendente de los espermatozoides. En efecto cuando se añade PGF_{2a} al semen y se mide la progresión vertical de éste en tubo capilar que, así mismo, contiene PGF_{2a}, se constata que, sin importar la dosis empleada, la progresión vertical presenta una diferencia altamente significativa con respecto a los controles (P<0,001). Se comprueba además que esta acción es dependiente de la dosis, toda vez que tanto en el subgrupo «a», como cuando se duplica esta dosis, la progresión ascendente supera ampliamente a la del testigo: 21,2 ± 1,27 mm, 23,06 ± 0,77 mm y 14,6 ± 1,15 mm respectivamente. Por el contrario, cuando la dosis se cuadriplica, con respecto al subgrupo «a», se registra un claro efecto negativo sobre la progresión vertical, ya que ésta disminuye hasta un valor de 7,8 ± 0,35 mm.

Cuando la progresión vertical del semen tratado con PGF_{2a} se mide en tubo capilar que sólo contiene SG, se registran los mismos efectos que en el caso anterior, pero atenuados. El único efecto a hacer constar en este caso, es que ante el uso de dosis cuádruple, el hecho de que exista o no PGF_{2a} en el tubo capilar, introduce una diferencia significativa: 7,80 ± 0,35 mm vs 11,9 ± 0,56 mm.

De igual forma, cuando la progresión vertical del semen carente de PGF_{2a} se mide sobre tubo capilar que la contiene (3.^a modalidad), se establece también diferencias de carácter altamente significativo con respecto al control (P<0,001). Como en los casos anteriores, también aquí la acción de la PGF_{2a} contenida en el tubo capilar, parece ser dosis dependiente, toda vez que los valores de la progresión vertical para la dosis de los tres subgrupos se establecen en 17,8 ± 1,21 mm, 22,2 ± 0,76 mm y 8,6 ± 0,61 mm (a, b, c) frente a 14,6 ± 1,15 mm del testigo.

De estos resultados parece desprenderse, dadas las diferencias constatadas, que la PGF_{2a} en función de la dosis, posee un claro efecto mejorador de la progresión vertical, aunque de aumentar dicha dosis podría producirse un cierto efecto tóxico, o de agotamiento de los espermatozoides, toda vez que ante la adición de una dosis cuádruple (subgrupo c) —bien sea en el semen o bien en el tubo capilar— la progresión vertical no llega, ni siquiera a alcanzar los valores registrados para el grupo Control con el que establece, en todos los casos, una diferencia claramente significativa.

CUADRO N.º 6

Estudio comparativo del test de progresión vertical del grupo I (F_{2a}) con respecto al control

Grupo	Progresión vertical (mm)			
Control	14.6 ± 1.15			
	Modalidad 1	Modalidad 2	Modalidad 3	MDS
Subgrupo I.a	$21.2 \pm 1.27^{***}$	$19.2 \pm 2.14^{***}$	$17.8 \pm 1.21^{***}$	2.78
Subgrupo I.b	$23.0 \pm 0.77^{***}$	$23.7 \pm 1.37^{***}$	$22.2 \pm 0.76^{***}$	5.67
Subgrupo I.c	$7.8 \pm 0.35^{***}$	$11.9 \pm 0.56^{***}$	$8.6 \pm 0.61^{***}$	1.13

M.D.S. = Mínima Diferencia Significativa.

*** = Altamente significativo.

4.1.c. *Test de progresión horizontal*.—Según se recoge en el Cuadro n.º 7, la adición de PGF_{2a} no introduce ninguna diferencia significativa en la progresión horizontal de los espermatozoides de semen descongelado de toro con respecto a los controles. Tampoco se registran diferencias de carácter significativo, ante el hecho de que la PGF_{2a} se añada al semen solamente, al tubo capilar exclusivamente, o a ambos.

CUADRO N.º 7

Estudio comparativo del test de progresión horizontal del grupo I (F_{2a}) con respecto al control

Grupo	Progresión horizontal (mm)		
Control	49.5 ± 1.43		
	Modalidad 1	Modalidad 2	Modalidad 3
Subgrupo I.a	49.7 ± 1.85	48.9 ± 1.51	51.0 ± 1.46
Subgrupo I.b	50.1 ± 1.90	49.0 ± 1.90	51.8 ± 1.72
Subgrupo I.c	47.5 ± 3.14	46.1 ± 2.53	48.5 ± 2.53

4.1.d. *Indice de supervivencia*.—Para el parámetro T, la adición de PGF_{2a} introduce diferencias muy significativas con respecto a los controles ($0.01 > P > 0.001$) en función de la dosis (Cuadro n.º 8), toda vez que la supervivencia con la dosis correspondiente al subgrupo «a» es prácticamente igual que la del testigo y sin significación estadística con respecto a ella. Cuando la dosis es doble o cuadruple, la supervivencia disminuye (34 ± 0.85 horas y 32.5 ± 0.87 horas para los subgrupos b y c respectivamente), hecho que parece estar en consonancia con el efecto tóxico o de agotamiento, ya apuntado al medir la progresión vertical.

Con respecto al valor S, y en consonancia con lo registrado en la motilidad individual, no resulta afectado por la adición de PGF_{2a} , para ninguna de las dosis usadas en este estudio.

CUADRO N.º 8

Estudio comparativo del índice de supervivencia para el grupo I (F_{2a}) con respecto al control

Grupo	Valor «T» (horas)	Valor «S» (%)
Control	39.0 ± 1.55	25.2 ± 0.66
Subgrupo I.a	37.5 ± 1.67	28.3 ± 2.73
Subgrupo I.b	$34.0 \pm 0.85^{**}$	27.3 ± 1.29
Subgrupo I.c	$32.5 \pm 0.87^{**}$	26.3 ± 1.02
M.D.S.	3.70	

M.D.S. = Mínima Diferencia Significativa.

** = muy significativa.

4.2. Grupo II

4.2.a. *Motilidad individual*.—La adición de PGE_1 al semen descongelado de toro, determina un ligero aumento de la M.i. inmediatamente después de añadir la PG. No obstante, este aumento carece de significación estadística con respecto al testigo e incluso entre los diferentes subgrupos establecidos. Por lo tanto la M.i. no es dosis dependiente de la PGE_1 , toda vez que el duplicar o cuadruplicar la dosis, no introduce ninguna modificación estadísticamente significativa (Cuadro n.º 9).

CUADRO N.º 9

M.i. media inmediatamente después de añadir PGE

Grupo	Motilidad individual (%)
Control	59.5 ± 1.61
Subgrupo II.a	63.7 ± 1.70
Subgrupo II.b	63.7 ± 2.35
Subgrupo II.c	62.5 ± 1.68

4.2.b. *Test de progresión vertical*.—Según se recoge en el Cuadro n.º 10, la adición de PGE_1 posee un claro efecto sobre la capacidad ascendente de los espermatozoides. Aparecen diferencias de carácter significativo entre los tres subgrupos con respecto al testigo, y también entre las diferentes modalidades en que se efectúa este test para cada subgrupo.

El subgrupo II.a y para las tres modalidades, establece una significación estadística muy significativa con respecto al testigo ($0.01 > P > 0.001$); de igual forma existe diferencia estadística entre las modalidades 2 y 3 con respecto a la modalidad 1. En el subgrupo II.b también existe diferencia significativa para las tres modalidades y entre la 1 y 3 del orden de $P < 0.001$. El subgrupo II.c establece también con respecto al testigo un aumento significativo de la progresión vertical con $0.01 > P > 0.001$, para las tres modalidades, no existiendo, en este caso, significación estadística entre las diferentes modalidades comparadas entre sí.

CUADRO N.º 10

Estudio comparativo del test de progresión vertical del Grupo II (PGE₁) con respecto al control

Grupo	Progresión vertical (mm)				
	Control	Modalidad 1	Modalidad 2	Modalidad 3	M.D.S.
		14.6 ± 1.15			
Subgrupo II.a	25.6 ± 1.41**	21.1 ± 1.88**	20.8 ± 1.67**	3.94	
Subgrupo II.b	26.5 ± 1.27***	24.6 ± 1.41***	21.1 ± 2.02***	3.86	
Subgrupo II.c	19.4 ± 1.16**	17.5 ± 1.12**	20.2 ± 1.33**	2.92	

M.D.S. = Mínima Diferencia Significativa.

** = Muy significativo.

*** = Altamente significativo.

Parece desprenderse de estos resultados, que dadas las diferencias constatadas, la PGE₁ en función de la dosis, posee un claro efecto mejorador de la progresión vertical, toda vez que al duplicar la dosis aumenta la progresión vertical con respecto a los resultados del subgrupo «a», y cuando se cuadriplica disminuye este efecto, posiblemente debido a un efecto tóxico o de agotamiento de los espermatozoides. No obstante los resultados de este subgrupo «c» siguen estando por encima del testigo.

4.2.c. *Test de progresión horizontal*.—Según se recoge en el Cuadro n.º 11, la adición de PGE₁, no introduce ninguna diferencia significativa en la progresión horizontal de los espermatozoides de semen descongelado de toro, con respecto a los controles. Tampoco se registran diferencias de carácter significativo, ante el hecho de que la PGE₁ se añada al semen solamente, al tubo capilar o a ambos.

CUADRO N.º 11

Estudio comparativo del test de progresión horizontal del Grupo II (PGE₁) con respecto al control

Grupo	Progresión horizontal (mm)			
	Control	Modalidad 1	Modalidad 2	Modalidad 3
	49.5 ± 1.43			
Subgrupo II.a	50.5 ± 1.51	48.7 ± 1.12	51.0 ± 1.57	
Subgrupo II.b	48.5 ± 1.38	47.5 ± 1.37	50.6 ± 1.46	
Subgrupo II.c	51.0 ± 2.00	49.2 ± 1.40	49.9 ± 1.34	

4.2.d. *Indice de supervivencia*.—(Cuadro n.º 12). Para el parámetro T, la adición de PGE₁ introduce diferencias claramente significativas con respecto a los controles ($0.01 > P > 0.001$), y en función de la dosis, toda vez que la supervivencia del subgrupo «a» es prácticamente igual que la del testigo y sin significación estadística con respecto a ella. Cuando la dosis es doble o cuádruple, la supervivencia disminuye significativamente no sólo con respecto al

testigo sino también con respecto al subgrupo «a», posiblemente por un efecto de agotamiento sobre los espermatozoides ejercido por la PGE₁ a dichas dosis.

Con respecto al valor S y en consecuencia con lo registrado en la M.i., no resulta afectado por la adición de PGE₁ para ninguna de las dosis usadas en este estudio.

CUADRO N.º 12

Estudio comparativo del índice de supervivencia para el Grupo II con respecto a los controles.

Grupo	Valor «T» (horas)	Valor «S» (%)
Control	39.0 ± 1.55	25.2 ± 0.66
Subgrupo II.a	39.5 ± 2.04	28.8 ± 0.96
Subgrupo II.b	32.5 ± 1.06**	27.6 ± 0.85
Subgrupo II.c	33.0 ± 1.38**	27.1 ± 1.03
M.D.S.	4.61	—

M.D.S. = Mínima Diferencia Significativa.

** = Muy significativo.

4.3. Grupo III

4.3.a. *Motilidad individual*.—Como se comprueba en el Cuadro n.º 13 la adición de PGE₂ determina inmediatamente después de añadida y para todos los subgrupos, un incremento de la M.i. con respecto al testigo, si bien solamente es significativa con respecto al testigo la correspondiente al subgrupo «a» ($0.05 > P > 0.01$), de igual forma existe significación estadística entre el subgrupo «a» y el «c».

CUADRO N.º 13
M.i. media inmediatamente después de añadir PGE₂ con respecto a los controles

Grupo	Motilidad individual (%)
Control	59.5 ± 1.61
Subgrupo III.a	67.9 ± 2.42*
Subgrupo III.b	63.7 ± 2.55
Subgrupo III.c	59.5 ± 2.60
M.D.S.	6.53

M.D.S. = Mínima diferencia significativa.

* = Significativo.

A la vista de los resultados podemos afirmar que la PGE₂, posee un ligero efecto mejorador sobre la M.i., significativamente estadísticamente solamente para la dosis utilizada en el subgrupo «a», con respecto al testigo.

4.3.b. *Test de progresión vertical*.—Según se recoge en el Cuadro n.º 14, la adición de PGE₂ posee un claro efecto sobre la capacidad ascendente de los espermatozoides del semen descongelado de toro. En los tres subgrupos establecidos se constata diferencias significativas con respecto al testigo, siendo en los dos primeros subgrupos de carácter positivo, mientras que para el subgrupo «c» es de carácter negativo. En todos los casos con $P < 0.001$.

CUADRO N.º 14

Estudio comparativo del test de progresión vertical en el Grupo III (PGE₂) con respecto al control

Grupo	Progresión vertical (mm)			
Control	14.6 ± 1.15			
	Modalidad 1	Modalidad 2	Modalidad 3	M.D.S.
Subgrupo III.a	19.8 ± 0.64***	20.6 ± 1.36***	19.0 ± 0.83***	2.23
Subgrupo III.b	19.2 ± 1.60***	19.2 ± 1.35***	23.3 ± 1.68***	3.68
Subgrupo III.c	9.5 ± 0.40***	11.7 ± 0.52***	8.8 ± 0.40***	0.90

M.D.S. = Mínima Diferencia Significativa.

*** = Altamente significativo.

Mientras que en el primer subgrupo no existen diferencias de carácter significativo entre las tres modalidades, en los otros dos subgrupos sí aparecen diferencias claramente significativas ($P<0,001$) en dependencia de la forma de realizar el test.

En el subgrupo b, la tercera modalidad es significativamente diferente a las dos primeras modalidades. De forma análoga en el subgrupo c, la modalidad 2 establece diferencia de carácter significativo con respecto a las modalidades 1 y 2.

De estos resultados parece desprenderse, dadas las diferencias constatadas, que la PGE₂ y en función de su dosis, posee un claro efecto mejorador de la progresión vertical, pero limitado según la dosis, toda vez que ante la adición de una dosis cuádruple la progresión vertical no llega, ni siquiera, a alcanzar los valores registrados para el grupo Control con el que establece, en todos los casos, una diferencia claramente significativa ya apuntada anteriormente.

4.3.c. *Test de progresión horizontal*.—Según se recoge en el Cuadro n.º 15, la adición de PGE₂, no introduce más que una ligera diferencia significativa, con respecto al testigo. Concretamente, sólo la Modalidad 1 del Subgrupo c posee diferencia estadísticamente significativa ($0,05>P>0,01$) con respecto al testigo. Tampoco se registran diferencias de carácter significativo dentro de cada subgrupo, ante el hecho de que la PGE₂ se añada al semen solamente, al tubo capilar, o a ambos.

CUADRO N.º 15

Estudio comparativo del test de progresión horizontal del Grupo III (PGE₂) con respecto al control

Grupo	Progresión horizontal (mm)			
Control	49.5 ± 1.43			
	Modalidad 1	Modalidad 2	Modalidad 3	M.D.S.
Subgrupo III.a	47.0 ± 1,67	47.4 ± 1,61	50.2 ± 1,73	—
Subgrupo III.b	47.5 ± 1,84	46.9 ± 1,26	48.6 ± 1,42	—
Subgrupo III.c	43.0 ± 2,33*	45.5 ± 1,39	47.5 ± 1,45	4.68

M.D.S. = Mínima Diferencia Significativa.

* = Significativo.

4.3.d. *Indice de supervivencia*.—(Cuadro n.º 16). Para el parámetro T, se constata una disminución proporcional al aumento de la dosis añadida de PGE₂, pero esta disminución, en ningún caso es de tipo significativo con respecto al control. De igual forma tampoco son significativas las diferencias observadas entre los tres subgrupos.

El parámetro S, por el contrario, registra diferencias significativas ($0,05>P>0,01$). Existe significación estadística entre el valor S del subgrupo a y el testigo. De igual forma se constata entre el subgrupo a y el c. En ambos casos es el valor S el que supera al testigo y al del grupo c respectivamente.

CUADRO N.º 16
Estudio comparativo del índice de supervivencia para el Grupo III (PGE₂) con respecto a los controles

Grupo	Valor «T»	Valor «S»
Control	39.0 ± 1.55	25.2 ± 0.96
Subgrupo III.a	37.5 ± 1.94	28.9 ± 1.21*
Subgrupo III.b	36.6 ± 1.87	27.4 ± 1.19
Subgrupo III.c	35.5 ± 1.15	25.1 ± 0.83
M.D.S.	—	3.06

M.D.S. = Mínima Diferencia Significativa.

* = Significativo.

Tenemos que hacer constar que el aumento significativo del valor S del subgrupo a, parece estar relacionado con el aumento, también significativo, observando para la M.i. en este mismo subgrupo; con respecto en ambos casos al testigo.

4.4. Grupo IV

4.4.a. *Motilidad individual*.—La mezcla de PGsF_{2a}, E₁ y E₂ (subgrupo d) y la E₁ y E₂ (subgrupo c), presentan diferencias significativas ($0,05>P>0,01$) con respecto al testigo. Sin embargo no encontramos diferencias significativas para la M.i. con respecto al testigo para las mezclas de F_{2a} y E₁ (subgrupo a) y F_{2a} con E₂ (subgrupo b). De igual forma, y según se constata en el cuadro n.º 17, existe diferencia significativa entre el subgrupo a con respecto a los subgrupos c y d.

De estos resultados, cabe deducir, que solamente la mezcla de las tres prostaglandinas a la vez, y la de E₁ con la E₂ poseen un efecto mejorador de la M.i., siendo este efecto de significación estadística débil ($0,05>P>0,01$).

CUADRO N.º 17

M.i. media inmediatamente después de añadir las diferentes mezclas de PGs en comparación con el control

Grupo	Motilidad individual (%)
Control	59.5 ± 1.61
Subgrupo IV.a	58.7 ± 1.64
Subgrupo IV.b	61.2 ± 2.05
Subgrupo IV.c	65.4 ± 1.89*
Subgrupo IV.d	66.2 ± 1.86*
M.D.S.	6.30

M.D.S. = Mínima Diferencia Significativa.

* = Significativo.

4.4.b. Test de progresión vertical.—Al igual que para la M.i., en los subgrupos c y d, existe un aumento de la progresión vertical, con respecto a los controles. Este aumento es significativo estadísticamente ($0,01 > P > 0,001$) en el subgrupo d. Por el contrario y como se comprueba en el Cuadro n.º 18, en los subgrupos a y b existe una disminución de la capacidad de progresión vertical (a excepción de la modalidad 1 del subgrupo b). Esta disminución es solamente significativa ($0,05 > P > 0,01$) con respecto al testigo, en la modalidad 2 del subgrupo a.

CUADRO N.º 18

Estudio comparativo del test de progresión vertical del grupo experimental IV, con respecto al control.

Grupo	Progresión vertical (mm)			
	Control	Modalidad 1	Modalidad 2	Modalidad 3
Control	14.6 ± 1.15			
Subgrupo IV.a	12.9 ± 1.07	11.7 ± 0.86*	12.9 ± 0.92	2.1
Subgrupo IV.b	15.1 ± 1.11	13.0 ± 1.06	13.5 ± 1.19	—
Subgrupo IV.c	17.7 ± 1.57	17.6 ± 1.05	14.6 ± 0.82	—
Subgrupo IV.d	20.8 ± 2.21**	24.6 ± 2.30**	20.1 ± 1.85**	4.79

M.D.S. = Mínima Diferencia Significativa.

** = Muy significativo.

* = Significativo.

De los resultados anteriores, se deduce que la mezcla de prostaglandinas dos a dos, no potencia la acción de las prostaglandinas por separado, sobre la progresión vertical; a excepción hecha de la mezcla de las tres prostaglandinas (subgrupo d), toda vez que es la única mezcla que supera ampliamente, y con carácter significativo, al testigo. Por el contrario, la mezcla de F_{2a} y E_1 , conjuntamente (subgrupo a) disminuye ostensiblemente, y de carácter significativo en la modalidad 2 ($0,05 > P > 0,01$), la progresión vertical con respecto al testigo.

4.4.c. Test de progresión horizontal.—Según se recoge en el Cuadro n.º 19, la adición de las diferentes mezclas de PGs, no introduce ninguna diferencia significativa en la progresión horizontal de los espermatozoides de semen descongelado de toro, con respecto a los controles. Tampoco se registran diferencias de carácter significativo entre las diferentes modalidades en que se efectúa el test en cada subgrupo establecido.

CUADRO N.º 19
Estudio comparativo del test de progresión horizontal del Grupo IV, con respecto al control

Grupo	Progresión horizontal (mm)			
	Control	Modalidad 1	Modalidad 2	Modalidad 3
Control	49.5 ± 1.43			
Subgrupo IV.a	46.4 ± 1.71	46.5 ± 1.90	45.0 ± 2.03	
Subgrupo IV.b	48.3 ± 2.06	46.6 ± 2.26	48.4 ± 2.63	
Subgrupo IV.c	49.7 ± 1.74	49.0 ± 1.29	49.5 ± 0.96	
Subgrupo IV.d	50.0 ± 1.48	48.5 ± 1.37	48.5 ± 1.16	

4.4.d. Índice de supervivencia.—Como se recoge en el Cuadro n.º 20 el parámetro T no se ve influenciado significativamente con respecto a los controles, por la adición de las diferentes mezclas de PGs que se estudian. De igual forma tampoco son significativas las diferencias constatadas entre los cuatro subgrupos.

CUADRO N.º 20
Estudio comparativo del índice de supervivencia para el Grupo experimental IV con respecto a los controles

Grupo	Valor «T»	Valor «S»
Control	39.0 ± 1.55	25.2 ± 0.96
Subgrupo IV.a	40.5 ± 1.27	21.8 ± 1.16***
Subgrupo IV.b	39.5 ± 0.60	23.5 ± 1.21
Subgrupo IV.c	40.5 ± 1.67	27.1 ± 0.87
Subgrupo IV.d	39.0 ± 0.90	29.7 ± 1.15***
M.D.S.	—	2.92

M.D.S. = Mínima Diferencia Significativa.

*** = Altamente significativo.

Con respecto al parámetro S, se registran diferencias significativas ($P < 0,001$) de los subgrupos a y d con respecto al testigo. El subgrupo d (mezcla de las tres PGs) posee un claro efecto mejorador de este parámetro con respecto al testigo. Por el contrario, el subgrupo a constata un efecto claramente negativo con respecto al testigo.

Con respecto a los subgrupos b y c no establecen diferencias de carácter significativo con respecto al testigo. No obstante se constata un ligero efecto mejorador por parte del subgrupo c y un efecto negativo del subgrupo b.

Entre los diferentes subgrupos también se entablan diferencias de carácter significativo. En este sentido, se observa entre el subgrupo c con respecto a los a y b. De igual forma entre el subgrupo d y los a y b.

Debemos de hacer notar que los resultados de este parámetro S, están en consonancia con la discusión hecha tanto para la M.i. como para la progresión vertical, efectuada en apartados anteriores.

5. DISCUSION DE LOS RESULTADOS

5.1. Influencia de las PGs usadas sobre la M.i.

Según se desprende de los resultados obtenidos con las distintas PGs usadas en este estudio, y sus mezclas, sobre la M.i. inmediatamente después de adicionadas al semen descongelado de toro (Cuadro n.º 21), sólo la PGE₂, a dosis de 1,78 mcg, ejerce un efecto significativo ($0,05 > P > 0,01$) de carácter

CUADRO N.º 21

Estudio comparativo de la acción de las PGs usadas sobre la M.i. con respecto al control

Grupo	Motilidad individual (%)
Control	59.5 ± 1.61
Grupo I (F_{2a})	Subgrupo I.a 67.0 ± 2.47
	Subgrupo I.b 63.7 ± 1.96
	Subgrupo I.c 62.9 ± 2.78
Grupo II (E_1)	Subgrupo II.a 63.7 ± 1.70
	Subgrupo II.b 63.7 ± 2.35
	Subgrupo II.c 62.5 ± 1.68
Grupo III (E_2)	Subgrupo III.a $67.9 \pm 2.42^*$
	Subgrupo III.b 63.7 ± 2.55
	Subgrupo III.c 59.5 ± 2.60
Grupo IV (Mezclas)	Subgrupo IV.a 58.7 ± 1.64
	Subgrupo IV.b 61.2 ± 2.05
	Subgrupo IV.c 65.4 ± 1.89 (M.D.S. = 5.30)*
	Subgrupo IV.d 66.2 ± 1.86 (M.D.S. = 5.30)*

M.D.S. = Mínima Diferencia Significativa.

* = Significativo.

positivo, con respecto a los controles. El resto de las PGs, individualizadas y sin importar su dosis, carecen de acción significativa, aunque desde luego en todos los casos se nota una cierta tendencia a aumentar dicha M.i.

Cuando al semen descongelado le adicionan mezclas de PGs, la M.i., sólo aparece significativamente mejorada, con respecto a los controles, en dos casos; cuando se mezclan las tres PGs usadas en este estudio y cuando se mezclan las pertenecientes al grupo E.

A la vista de estos resultados parece ser que la PGE₂ tiene un ligero efecto estimulante de la M.i. al ser añadida al esperma descongelado de toro que la E₁ carece de este efecto y no modifica el efecto de la E₂ cuando se emplea junto con ella, mientras que la F_{2a} no interfiere en la motilidad individual pero sería capaz de inhibir la acción estimulante de la E₂ al emplearla mezclada con esta.

5.2. Influencia de las PGs usadas sobre la progresión vertical

De acuerdo con los resultados obtenidos (Cuadro n.º 22) en las tres formas en que se realiza este test, sobre semen descongelado al cual se adicionaba

CUADRO N.º 22
Estudio comparativo de la acción de las PGs usadas en este estudio sobre la progresión vertical con respecto al control

Grupo	Progresión vertical (mm)			
	Control	14.6 ± 1.15		
Grupo I (F_{2a})				
Subgrupo I.a	$21.2 \pm 1.27^{***}$	$19.2 \pm 2.14^{***}$	$17.8 \pm 1.21^{***}$	2.78
Subgrupo I.b	$23.0 \pm 0.77^{***}$	$23.7 \pm 1.37^{***}$	$22.2 \pm 0.76^{***}$	5.67
Subgrupo I.c	$7.8 \pm 0.35^{***}$	$11.9 \pm 0.56^{***}$	$8.6 \pm 0.61^{***}$	1.13
Grupo II (E_1)				
Subgrupo II.a	$25.6 \pm 1.41^{**}$	$21.1 \pm 1.88^{**}$	$20.8 \pm 1.67^{**}$	3.94
Subgrupo II.b	$26.5 \pm 1.27^{***}$	$24.6 \pm 1.41^{***}$	$21.1 \pm 2.02^{***}$	3.86
Subgrupo II.c	$19.4 \pm 1.16^{**}$	$17.5 \pm 1.12^{**}$	$20.2 \pm 1.33^{**}$	2.92
Grupo III (E_2)				
Subgrupo III.a	$19.8 \pm 0.64^{***}$	$20.6 \pm 1.26^{***}$	$19.0 \pm 0.83^{***}$	2.23
Subgrupo III.b	$19.2 \pm 1.60^{***}$	$19.2 \pm 1.35^{***}$	$23.3 \pm 1.68^{***}$	3.68
Subgrupo III.c	$9.5 \pm 0.40^{***}$	$11.7 \pm 0.52^{***}$	$8.8 \pm 0.40^{***}$	0.90
Grupo IV (Mezclas)				
Subgrupo IV.a	12.9 ± 1.07	$11.7 \pm 0.86^*$	12.9 ± 0.92	2.19
Subgrupo IV.b	15.1 ± 1.11	13.0 ± 1.06	13.5 ± 1.19	-
Subgrupo IV.c	17.7 ± 1.57	17.6 ± 1.05	14.6 ± 0.82	
Subgrupo IV.d	$20.8 \pm 2.21^{**}$	$24.6 \pm 2.30^{**}$	$20.1 \pm 1.85^{**}$	4.79

M.D.S. = Mínima Diferencia Significativa.

* = Significativo.

** = Muy Significativo.

*** = Altamente Significativo.

PGs, se deduce que todas las prostaglandinas individualizadas mejoran la progresión vertical en sus tres modalidades, siempre que la dosis no exceda de 35,6 mcg para la F_{2a} o de 3,56 mcg para la E_2 . La E_1 parece escapar a esta regla, aunque desde luego al adicionar 7,14 mcg. (Subgrupo II.c) su acción mejorante para este parámetro disminuye sensiblemente respecto de la ofrecida por las dosis inferiores.

La máxima acción potenciadora de la progresión vertical se registra con la PGE_1 , a cualquiera de las dosis empleadas en tanto que la PGE_2 parece ser la de menor efecto, ocupando la PGF_{2a} una posición intermedia.

En cuanto al grupo experimental en el que se emplean mezclas de PGs (Grupo IV), solamente cuando las 3 PGs usadas en este estudio se adicionan a la vez (Subgrupo IV.d), se constata una mejora sobre la progresión vertical, estadísticamente muy significativa, con respecto a los controles. Por el contrario, cuando la mezcla sólo incorpora a 2 PGs no hay efecto con respecto a los controles, a excepción hecha de la 2.^a modalidad de la mezcla de F_{2a} y E_1 , en que se aprecia un descenso poco significativo con respecto al control.

5.3. *Influencia de las PGs usadas sobre la progresión horizontal*

A la vista de los resultados obtenidos en este parámetro (Cuadro n.^o 23), parece deducirse que tanto las prostaglandinas individualizadas como sus

CUADRO N.^o 23

Estudio comparativo de la acción de las PGs usadas en este estudio sobre la progresión horizontal con respecto al control

Grupo	Progresión horizontal (mm)			
	Control	Modalidad 1	Modalidad 2	Modalidad 3
Control		49.5 ± 1.43		
Grupo I (F_{2a})				M.D.S.
Subgrupo I.a	49,7 ± 1,85	48,9 ± 1,51	51,0 ± 1,46	—
Subgrupo I.b	50,1 ± 1,90	49,0 ± 1,90	51,8 ± 1,72	—
Subgrupo I.c	47,5 ± 3,14	46,1 ± 2,53	48,5 ± 2,53	—
Grupo II (E_1)				
Subgrupo II.a	50,5 ± 1,51	48,7 ± 1,12	51,0 ± 1,57	—
Subgrupo II.b	48,5 ± 1,38	47,5 ± 1,37	50,6 ± 1,46	—
Subgrupo II.c	51,0 ± 2,00	49,2 ± 1,40	49,9 ± 1,34	—
Grupo III (E_2)				
Subgrupo III.a	47,0 ± 1,67	47,4 ± 1,61	50,2 ± 1,73	—
Subgrupo III.b	47,5 ± 1,84	46,9 ± 1,26	48,6 ± 1,42	—
Subgrupo III.c	43,0 ± 2,33*	45,5 ± 1,38	47,5 ± 1,45	4,68
Grupo IV (Mezclas)				
Subgrupo IV.a	46,4 ± 1,71	46,5 ± 1,90	45,0 ± 2,03	—
Subgrupo IV.b	48,3 ± 2,06	46,6 ± 2,26	48,4 ± 2,63	—
Subgrupo IV.c	49,7 ± 1,74	49,0 ± 1,29	49,5 ± 0,95	—
Subgrupo IV.d	50,0 ± 1,48	48,5 ± 1,37	48,5 ± 1,16	—

M.D.S. = Mínima Diferencia Significativa.

* = Significativo.

mezclas, en las dosis empleadas en este trabajo, carecen de efecto sobre la progresión horizontal de los espermatozoides de semen descongelado de toro, toda vez que el análisis estadístico solamente acusa diferencia significativa con respecto a los controles, en la modalidad 1 del Subgrupo III.c.

5.4. *Influencia de las PGs usadas sobre el índice de supervivencia*

El parámetro T no mejora significativamente con respecto a los controles en ninguno de los grupos experimentales estudiados (Cuadro n.^o 24). Por el contrario, se constata una disminución significativamente estadística con respecto a los controles, en la adición de las PGs F_{2a} y E_1 , cuando la dosis añadida al semen supera a 17,8 mcg y 1,78 mcg respectivamente.

Con respecto al parámetro S, y en lo que respecta a las prostaglandinas individualizadas, no parece influir la adición de las mismas, toda vez que solamente la PGE_1 presenta una diferencia de carácter significativo, de sentido positivo con respecto a los controles, cuando se adiciona a dosis de 1,78 mcg.

CUADRO N.^o 24

Estudio comparativo de la acción de las PGs utilizadas en este estudio sobre el índice de supervivencia con respecto a los controles

Grupo	Valor «T»	Valor «S»
Control	39,0 ± 1,55	25,2 ± 0,66
Grupo I (F_{2a})		
Subgrupo I.a	37,5 ± 1,67	28,3 ± 2,73
Subgrupo I.b	34,0 ± 0,85**	27,3 ± 1,29
Subgrupo I.c	32,5 ± 0,87**	26,3 ± 1,02
Grupo II (E_1)		
Subgrupo II.a	39,0 ± 2,04	28,8 ± 0,96
Subgrupo II.b	32,5 ± 1,06**	27,6 ± 0,85
Subgrupo II.c	33,0 ± 1,38**	27,1 ± 1,03
Grupo III (E_2)		
Subgrupo III.a	37,5 ± 1,94	28,9 ± 1,21*
Subgrupo III.b	36,5 ± 1,87	27,4 ± 1,19
Subgrupo III.c	35,5 ± 1,15	25,1 ± 0,83
Grupo IV (Mezclas)		
Subgrupo IV.a	40,5 ± 1,27	21,8 ± 1,28***
Subgrupo IV.b	39,5 ± 0,60	23,5 ± 1,21
Subgrupo IV.c	40,5 ± 1,67	27,1 ± 0,87
Subgrupo IV.d	39,0 ± 0,90	29,7 ± 1,15***

* = Significativo.

** = Muy Significativo.

*** = Altamente Significativo.

La mezcla de las tres prostaglandinas posee un efecto altamente significativo con respecto a los controles, aumentando el valor S. Por el contrario la mezcla F_{2a} y E_1 desciende el valor S con respecto al testigo, también con una significación estadística muy alta. El resto de las mezclas estudiadas no influyen sobre dicho parámetro, si bien se constata un ligero aumento del valor S con la mezcla de E_1 y E_2 , y un descenso con la mezcla F_{2a} y E_2 con respecto a los testigos.

No habiendo sido estudiada anteriormente la acción de las PGs sobre el esperma congelado de ninguna especie, sólo podemos comparar estos resultados con los obtenidos en estudios semejantes con esperma fresco.

Nuestros resultados no concuerdan con los de ASPLUND (11), HAWKINS et al. (106) y ELIASSON (75), quienes niegan la participación de las PGs en general, sobre las características intrínsecas del esperma fresco. Sin embargo, están en línea con los obtenidos por CABALLERO y PALOMO (42, 43), quienes encuentran que las PGs F_{2a} , E_1 y E_2 aumentan la progresión vertical de los espermatozoides del esperma fresco humano. Sin embargo, con respecto al tanto por ciento de formas progresivamente móviles, dichos autores encuentran un aumento significativo para todas las PGs, mientras que nosotros solamente hallamos un aumento significativo con la E_2 a dosis de 1,78 mcg/0,5 ml de semen, mezcla de las tres PGs, y mezcla de E_1 y E_2 . Si bien es cierto que nuestro estudio ha sido realizado en esperma congelado y en diferente especie, lo que podría ser el motivo de tales diferencias.

6. RESUMEN

Se estudió el efecto de las prostaglandinas F_{2a} , E_1 y E_2 , tanto individualmente –a tres niveles de dosificación–, como en sus posibles combinaciones, sobre la motilidad y supervivencia espermática, al ser añadidas al esperma congelado de toro en el momento de su descongelación.

De los resultados obtenidos con el presente estudio se pone en evidencia lo siguiente:

La motilidad individual aumenta significativamente al añadir al semen recién descongelado PGE_2 a la dosis de 1,78 mcg/0,5 ml semen, al igual que la combinación de las tres PGs y la de PGE_1 con PGE_2 .

La progresión vertical espermática aumenta muy significativamente con la adición de las tres prostaglandinas, añadidas individualmente al semen recién descongelado a dosis de 17,8 mcg y 35,6 mcg/0,5 ml para la PGF_{2a} , y de 1,78 mcg y 3,56 mcg/0,5 ml para las PGs E_1 y E_2 . A dosis más altas solamente la E_1 conserva su efecto estimulante, en tanto que la F_{2a} y E_2 disminuyen dicha progresión vertical significativamente con respecto a los controles. De igual forma, la adición de la mezcla de las tres prostaglandinas simultáneamente y a

la mínima dosis, aumenta la capacidad de progresión vertical, mientras que añadidas dos a dos no producen dicho efecto.

La progresión espermática horizontal no se afecta con la adición de ninguna de las prostaglandinas, tanto individualmente como en sus diferentes mezclas.

En cuanto a la supervivencia espermática, la adición de PGF_{2a} a dosis de 35,6 mcg/0,5 ml de semen o dosis superiores, al igual que la PGE_1 a dosis de 3,56 mcg/0,5 ml de semen o superiores, producen una disminución de dicha supervivencia espermática, con respecto a los controles, de 5 a 7 horas.

RÉSUMÉ

On étudie l'effet des prostaglandines F_{2a} , E_1 et E_2 individuellement, à trois niveaux de dosage, comme dans ses possibles combinaisons, sur la motilité et survie spermatique, quand on l'ajoute au sperme congelé de taureau au moment de décongélation.

Après les résultats obtenus avec cette étude, on arrive à la suivante conclusion:

La motilité individuel augmente significativement en ajoutant le sperme fraîchement décongelé PG E_2 à la dose de 1,78 mcg/0,5 ml sperme, également que la combinaison des trois PGs et celle de PG E_1 avec PG E_2 .

La progression verticale spermatique augmente significativement avec l'addition des trois prostaglandines, en ajoutant individuellement au sperme fraîchement décongelé à la dose de 17,8 mcg et 35,6 mcg/0,5 ml pour la PG F_{2a} , et de 1,78 mcg et 3,56 mcg/0,5 ml pour les PGs E_1 et E_2 . A dose plus grande seulement le E_1 garde son effet stimulant, mais la F_{2a} et E_2 diminuent cette progression vertical significativement aux controles. Du même, l'addition de mélange des trois prostaglandines simultanément et la dose minimum, augmente la capacité de la progression vertical, tandis que, quand ils sont ajoutés deux à deux, ils ne produisent pas cette effet.

La progression spermatique horizontale ne s'affecte pas avec l'addition de aucune des prostaglandines, individuellement, comme dans ses différents mélanges.

Pour ça, que concerne à la survie spermatique, l'addition de la PG F_{2a} à la dose 35,6 mcg/0,5 ml de sperme ou dose supérieure, aussi la PG E_1 à la dose de 3,56 mcg/0,5 ml de sperme ou supérieure, produisent une diminution de cette survie spermatique concernant aux controles, de 5 à 7 heures.

SUMMARY

The effect of PGs (F_{2a} , E_1 and E_2 individually, at three dosages, or in combination) added at thawing of freeze bull semen on the spermatic motility and survival, is investigated.

The results of the experiments in the present investigation have clearly showed that:

- 1) The PGE₂ (1,78 mcg/0,5 ml semen) and the combination PGs E₁- E₂ and F_{2a}-E₁-E₂, are capatles to rise the individual motility.
- 2) The PGF_{2a} (17,8-36,6 mcg/0,5 ml semen), E₁ and E₂ (1,78-3,56 mcg/0,5 ml semen) increase the vertical progression. When these doses are elevated only the PG E₁ continues raizing this parameter. The other PGs fail to rise it.
- 3) None of the PGs used in this investigation (alone or in combination) has any effect on the semen horizontal progression.
- 4) The spermatic supervivence is significantly reduced in 5-7 hours vs controls when the PGF_{2a} (35,6 mcg/0,5 ml semen) or E₁ (3,56 mcg/0,5 ml semen) are used.

7. CONCLUSIONES

1.^{a)} La prostaglandina E₂, al ser añadida al semen congelado de toro en el momento de su descongelación a dosis de 1,78 mcg/0,5 ml de semen, origina un aumento significativo de la motilidad individual –con respecto a los controles–, si bien este efecto no se constata a dosis superiores. Por el contrario las prostaglandinas F_{2a} y E₁, no modifican la motilidad individual a ninguna de las dosis empleadas.

2.^{a)} La adición de las tres prostaglandinas, conjuntamente, produce un aumento significativo de la motilidad individual, al igual que la mezcla de PGE₁ y PGE₂. Sin embargo, cuando se emplea la PGF_{2a}, ya sea con la PGE₁ ó PGE₂, este efecto no se produce.

3.^{a)} El test de progresión horizontal en el momento de la descongelación, no presenta diferencias significativas entre los controles y las muestras de semen a las que se adicionó prostaglandinas F_{2a}, E₁ y E₂, bien aisladamente o en las distintas mezclas.

4.^{a)} En cuanto al test de progresión vertical rectilínea, las tres prostaglandinas testadas, producen un aumento notablemente significativo con respecto a los controles, a las dosis mínimas y medias. Sin embargo a las dosis más altas empleadas en el presente trabajo, las prostaglandinas F_{2a} y E₂ dan lugar a una significativa disminución de dicho parámetro, conservando la PGE₁ su efecto positivo, aunque menos marcado que a dosis inferiores.

5.^{a)} La mezcla de las tres prostaglandinas, aumenta significativamente la capacidad espermática ascendente, mientras que añadidas dos a dos no muestran ningún efecto significativo con respecto a los controles.

6.^{a)} La supervivencia espermática del semen descongelado de toro, al que se añadía las prostaglandinas en la forma que se describe en este trabajo, se ve afectada de la siguiente manera:

La PGE₂ no modifica la supervivencia espermática a ninguna de las dosis

empleadas, al igual que las diferentes mezclas testadas, mientras que la PGF_{2a} y la PGE₁, tanto a dosis medias como altas producen un significativo descenso –de 5 a 7 horas–, de la supervivencia con respecto a los controles.

8. AGRADECIMIENTOS

Queremos dejar constancia de nuestro sincero agradecimiento al Prof. Dr. don Miguel Abad Gavín, Catedrático de Cirugía y Reproducción de la Facultad de Veterinaria de León, bajo cuya dirección hemos realizado el presente trabajo, por haber sabido inculcarnos el espíritu de investigación que ha hecho posible llevar a buen fin esta Tesis Doctoral.

Igualmente, al Dr. Eduardo Vijil Maeso por sus estimables consejos y asistencia en la recogida de datos bibliográficos.

Al director del Centro Nacional de Selección y Reproducción Animal de León, don Enrique Maradona García, así como a los veterinarios del mismo Dr. Luis García González, don Ramiro Robles Fernández y don Medardo Pascual López, por su desinteresada colaboración en la parte experimental.

Al Dr. José Fernández Revuelta, del Departamento de Agricultura y Economía de esta Facultad por la ayuda prestada en el análisis estadístico de los resultados.

A los Dres. Lazcano, Pike y Sokolowsky, de Laboratorios UPJOHN, por habernos proporcionado las prostaglandinas necesarias para este estudio.

A mis compañeros don Luis Fernández Rodríguez y don Rodrigo Díez Díaz por la ayuda que en todo momento nos prestaron en las tareas laboratoriales.

A la señorita Aurora Cancelo Dejuan que realizó el mecanografiado del original; y a todas aquellas personas que de una forma u otra nos brindaron su ayuda en la realización del presente trabajo.

9. BIBLIOGRAFIA

1. ABAD, M., VIJIL, E. y OLMEDO, J. (1972). *Ann. Fac. Vet. (León)*, **18** (2).
2. ABAD, M., VIJIL, E. y OLMEDO, J. (1973). *Acta. Ginecol.*, **25**, 343-54.
3. ABAD, M., VIJIL, E. y OLMEDO, J. (1974). *Folia Clin. Intern.*, **24**, 1, 2.
4. ABAD, M., DOMÍNGUEZ, J., MONTAÑES, M. F. y VIJIL, E. (1974). *Reproducción*, **1** (2): 177-85.
5. ADLER, H. C. (1964). *V.^o Cong. Intern. Reprod. Anim. Insem. Artif. Sezione III*, 40.
6. AGMO, A. (1975). *Prostaglandins*, **9**, 3, 451-457.
7. ALLEN, W. and ROWSON, L. (1973). *J. Reprod. Fert.*, **33**, 539-43.
8. ALMQVIST, J. O. (1962). *J. Dairy Sci.*, **45**, 911.
9. ALMQVIST, J. O. and WICKERSHAM, E. W. (1962). *J. Dairy Sci.*, vol. 58, **3**, 420-2.
10. ARMSTRONG, D. and GRINWICH, R. (1972). *Prostaglandins*, **1**, 21-8.
11. ASPLUND, J. (1947). *Acta. Physiol. Scand.*, **13**, 103.
12. BADR, F. M., BARCIKOWSKI, B. and BARKE, A. (1975). *Prostaglandins*, **9**, 2, 289.
13. BARTKE, A., MUSTO, N. and BEHRMAN, H. R. (1973). *Prostaglandins*, **3**, 97.
14. BEAZLEY, J., BRUMMER, H. and KURIAK, A. (1972). *J. Obstet. Gynaec. Brit. Comm.*, **79**, 800.
15. BEAZLEY, J. and GILLESPIE, A. (1971). *Lancet*, **1**, 152-3.
16. BEDFORD, J. M. (1971). *J. Reprod. Fert.*, **25**, 211.
17. BENNETT, A. (1972). *The Prostaglandins: Progress in Research*, 205-221. Ed. S.M.M. Karim, Lancaster.
18. BENSON, R. W., PICKET, B. W., LUCAS, F. F. and GEBAYER, M. R. (1967). *J. Dairy Sci.*, **50** (6): 968-969.
19. BERGSTROM, S. and SJÖVALL, J. (1960). *Acta. Chem. Scand.*, **14**, 1.701-1.705.
20. BERGSTROM, S., RYHAGE, R., SAMUELSSON, B. and SJÖVALL, S. (1962). *Acta. Chem. Scand.*, **16**, 501.
21. BERGSTROM, S., DANIELSSON, H. and SAMUELSSON, B. (1964). *Biochem. Biophys. Acta.*, **90**, 207.
22. BERGSTROM, S., DANIELSSON, H., KLENDBERG, D. and SAMUELSSON, B. (1964). *J. Biol. Chem.*, **239**, 4.006.
23. BERGSTROM, S. and SAMUELSSON, B. (1965). *Ann. Rev. Biochem.*, **34**, 101-8.
24. BERGSTROM, S. (1966). *Prostaglandins Nobel Symp.* 2. Eds. Bergström, S. and Samuelsson, B. Estocolmo.
25. BERGSTROM, S. (1967). *Science*, **157**, 382.
26. BERGSTROM, S., CARLSON, L. and WEEKS, J. (1968). *Pharmacol. Rev.*, **20**, 1.

27. BISHOP, W. H. (1954). *J. Agric. Sci.*, **44**, A, 227-248.
28. BISHOP, D. W. (1962). *Physiol. Review.*, **42**, 1-59.
29. BLACKSHAW, A. W. (1953). *J. gen. Physiol.*, **36**, 449.
30. BLACKSHAW, A. W. (1953). *J. Physiol. Lond.*, **120**, 465.
31. BLATCHLEY, F. and DONOVAN, B. (1969). *Nature* (London), **221**, 1.065.
32. BLATCHLEY, F. R., DONOVAN, B. T., POYSER, N. L. and HORTON, E. W., THOMPSON, C. J. and LOS, M. (1971). *Nature*, London, **230**, 243-244.
33. BLATCHLEY, F. R., DONOVAN, B. T., HORTON, E. W. and POYSER, N. L. (1972). *Journal of Physiology*, **228**, 69-88.
34. BOINO, G. (1976). Jefe del Circuito de I.A. ganadera Porma-Curueño. Comunicaciones Personales.
35. BONADONNA, T. (1972). *Zootec. Vet.*, **27** (11-12): 231.
36. BRATTON, R. W., FOOTE, R. H., HENDERSON, C. R., MUSGRAVE, S. D., DUNBAR, R. S., DUNN, H. D. and BEARDSLEY, J. P. (1956). *J. Dairy Sci.*, **39**, 1.542-1.549.
37. BRUMMER, H. C. (1973). *Fertility and Sterility*, **24**, 131-133.
38. BUCKNER, J. P., WILLET, E. L. and BAYLEY, N. (1954). *J. Dairy Sci.*, **37**, 1.050-1.054.
39. BYGDEMAN, M. (1969). *International Journal of Fertility*, **14**, 228.
40. BYGDEMAN, M., FREDRICSSON, B., SUANBERG, K. and SAMUELSSON, B. (1970). *Fertility and Sterility*, **21**, 622.
41. CABALLERO, A., CORREDERA, J., GARCÍA-ALBERTOS, F. y ALONSO, J. (1972). *Toko-Ginec. Pract.*, **331**, 633-62.
42. CABALLERO, A. y PALOMO, A. (1973). *Bol. de la Soc. Ginecológica Española*, vol. IV núm. 5, pág. 5.
43. CABALLERO, A. y PALOMO, A. (1973). *Toko-ginecológica Práctica*, **333**, 1.335-56.
44. CALDWELL, B. N., ROWSON, L. B. A., MOOR, R. M. and HAY, M. P. (1969). *J. Reprod. Fert., Suppl.*, **8**, 59-76.
45. CALDWELL, B. (1970). *Advances in Bioscience III*. Pergamon Press, Eds. F. Neumann. Viewrg. Stuttgart.
46. CALDERLL, B., TILLSON, S., BROCK, W. and SPEROFF, L. (1972). *Prostaglandins*, **1**, 3.
47. CASTRAGANE, V. and SAKSENA, S. (1974). *Prostaglandins*, **7**, 1.
48. CARPENTER, M. P., MANNING, L. and WISEMAN, B. (1971). *Fed. Proc.*, **30**, 1.081.
49. CARPENTER, M. F. and WISEMAN, B. (1970). *Proc. Fedn. Am. Soc. exp. Biol.*, **29**, 248 Abstr.
50. CASARES PONCE, H. y BOTELLA LLUSIA, J. (1953). *Arch. Med. Exper.* Madrid, **16**, 459.
51. CENEDELLA, R. J. and CROUTHMEL, W. G. (1973). *Prostaglandins*, **4**, 2, 285-290.
52. COOPER, I. and KELLY, R. W. (1975). *Prostaglandins*, **10**, 3, 507-514.
53. CORWELL, J. C., KOONCE, K. L. and KREIDER, J. L. (1974). *J. Animal Sci.*, **38**, 226.
54. COREY, E., SCHAAF, T., HUBER, W., KOELLIKE, V. and WEINSKENKER, M. (1970). *J. Amer. Chem. Soc.*, **92**.
55. CUELLAR, L. y CALDERON, F. (1973). *Suppl. Cient. Colegios Veterinarios de España*, núm. 197.
56. CUTHBERT, M. W. (1973). *The prostaglandins*, 253-286. Ed. Cuthbert. London.
57. CHALLIS, J., HARRISON, F., HEAB, B., HORTON, E. and POYSER, N. (1972). *J. Reprod. Fert.*, **30**, 485-8.
58. CHANG, M. C. (1959). *Recent Progress in the Endocrinology of Reproduction*, pp. 131-163. Ed. C. Lloyd. Academic Press, New York.
59. CHANG, M. C., HUHT, D. M. and POLGE, C. (1973). *Adv. Biosciences*, **9**, 805.
60. CHANG, M., SAKSENA, S. and HUNT, D. (1974). *Prostaglandins*, **4**, 5.
61. CHASLOW, F. I. and PHARRISS, B. B. (1972). *Prostaglandins*, **1**, 107-117.
62. CHAUCHURT, G. and HARVEY, J. (1974). *Prostaglandina*, **8**, 3.
63. CHESTER, R., DUKES, M., SLATER, R. and WALPOLE, A. (1972). *Nature* (London), **240**, 37.
64. CHRIST, E. J. and VAN DORP, D. A. (1972). *Ciochem. Biophys. Acta*, **270**, 537.
65. DANDEKAR, P., VAIDYA, R. and MORRIS, J., McL. (1972). *Fertil. Steril.*, **23**, 759.
66. DIEHL, J., GODKE, T., KILLIAN, D. and DAY, D. (1974). *J. Anim. Sci.*, **38**, 6.
67. DINEEN, J. K., KELLY, J. D., GOODRICH, B. S. and SMITH, I. D. (1974). *Prostaglandins*, **5**, 2, 209-220.
68. DOMÍNGUEZ, J. C. (1975). *Terap & Veterinaria*, **6** (31): 157-185.
69. DORP (van), D., BEERTHUIS, R., NUGTEREN, D. and VONKEMAN, H. (1964). *Biochem. Biophys. Acta*, **90**, 204.
70. DUIJN (van), Jr. (1964). *V.º Cong. Intern. Reprod. Anim. Artif.* IV, 313 Trento.
71. DUNCAN, G. and KIRTON, R. (1971). *J. Reprod. Med.*, **7**, 1.
72. DYER, D. (1970). *Gynec. Inves.*, **1**, 204.
73. EAKINS, K. E. (1973). *The Prostaglandins*, **214**, 238.
74. EIK-NES, N. B. (1969). *Gen. Camp. Endocrinol.*, **73** (Suppl 2): 87.
75. ELIASSON, R. (1959). *Acta Physiol. Scand.*, **46**, Suppl., **158**, 1-73.
76. ELIASSON, R. and POSSE, N. (1960). *Acta Obstet. Gynec. Scand.*, **39**, 112.
77. ELIASSON, R. and POSSE, N. (1965). *J. Fert.*, **10**, 373.
78. ELLINGER, J. and KIRTON, K. (1972). *Biol. Reprod.*, **7**, 106.
79. ELLIOTT, F. I., ELLIOT, E. J. and HAFS, H. D. (1954). *Proc. of the 7th Annual. Convention of the V. A. A. B.*
80. ELLIS, L. C., HOHSON, J. M. and HARGROVE, J. L. (1972). *Prostaglandins in Cellular Biology*, pp. 385-397. Eds. P. W. Rammel and B. B. Pharris. Plenum Press, London.
81. EMBREY, M. (1970). *Brit. Med. J.*, **2**, 256.
82. EMMESNS, C. W., and SWYER, G. I. (1948). *J. gen. Physiol.*, **32**, 121.
83. ERICSON, R. J. (1973). *Adv. Biosciences*, **9**, 737.
84. ERICKSON, W. E. and GRAHAM, E. F. (1959). *J. Dairy Sci.*, **42**, 520-528.
85. ESKIN, B. A. and AZARBAL, S. (1973). *Adv. Biosciences*, **9**, 731-735.
86. ESKIN, B. A., AZARBAL, S., SEPIC, R. and STATE, W. G. (1973). *Obstet. Gynecol. N. Y.*, **41**, 436-439.
87. EULER (von), U. (1934). *Arch. Exp. Path. Pharmacol.*, **175**, 87.
88. EULER (von), U. (1935). *J. Physiol.*, **84**, 21.
89. EULER (von), U. and ELLJASON, R. (1967). *Medicinal Chemistry Series of Monographs*. Academis Press, N. Y. vol. 8.
90. FERREIRA, S. H., MONCADA, S. and VANE, J. R. (1971). *Nature Lond. New. Biology*, **231**, 237.
91. FISHER, E. A. and YATES, F. (1954). *Tablas estadísticas para investigadores científicos*. Ediciones Aguilar, S. A. Madrid.
92. FLERCHINGER F. H., ERB, R. E. and EHLERS, M. H. (1953). *J. Dairy Sci.*, **30**, 1.016.
93. FILPSE, R. J., PATTON, S. and ALMQVIST, J. O. (1954). *J. Dairy Sci.*, **37**, 1.205.
94. FUCHS, A. (1972). *Fert. Steril.*, **23**, 6.
95. GILLET, P. (1972). *J. Reprod. Med.*, **8**, 6.
96. GLOKJUIS, E. W. M. (1972). *VII.º Cong. Intern. Reprod. Anim. Insem. Artif.* Munich.
97. GOLDBLATT, M. (1933). *J. Soc. Chem. Ind. (London)*, **52**, 1.056.
98. GOFFAUX, M. (1965). *Elevage Insemination n.º 90*, 11-16.
99. GOFFAUX, M. (1968). *Elevage Insemination n.º 103*, 3-27.
100. GUTKNECHT, G., CORNETTE, J. and PHARRIS, G. (1967). *Biol. Reprod.*, **1**, 367.
101. GUTKNECHT, G., CORNETTE, J. and PHARRIS, B. (1971). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **136**, 1.151.
102. HAFS, H. D., LOUIS, T. M. and STELLFLUG, J. N. (1974). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **145**, 1.120.
103. HAFS, H. D., LOUIS, T. M., WATERS, R. J., STELLFLUG, J. N. and HAYNES, N. B. (1974). *Prostaglandins*, **8**, 5, 417-422.
104. HARGROVE, J. L., HOHSON, J. M. and ELLIS, L. C. (1971). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **136**, 958-961.
105. HARTMAN, C. G. (1957). *Fert. Steril.*, **8**, 403.
106. HAWKINS, D. F. and LABRUM, A. H. (1956). *Brit. Med. J.*, **2**, 1.236.
107. HEDQUIST, P. (1973). *The Prostaglandins*. Vol. 1, 101-131.
108. HILARY, C., BRUMMER, AND ARNOLD GILLESPIE (1972). *Clinical Endocrinology*, **1**, 4: 363-368.
109. HILLIER, K. and KARIM, S. (1968). *J. Obstet. Gynec. Brit. Comm.*, **75**, 667-73.
110. HITTELMAN, K. J. and BUTCHER, R. W. (1973). *The prostaglandins*, 151-166. Ed. Cuthbert, London.
111. HOLT, A. F. (1953). *Vet. Rec.*, **65**, 561-562.
112. HORTON, E. W., MAIN, I. H. M. and THOMPSON, C. J. (1963). *J. Physiol.*, Lond., **168**, 54.
113. HORTON, E. W., MAIN, I. H. M. and THOMPSON, C. J. (1965). *J. Physiol.*, Lond., **180**, 514.
114. HORTON, E., MAIN, I. and THOMPSON, C. (1965). *J. Physiol.*, **150**, 514.
115. HORTON, E. W. (1972). *Monogr. Endocrinol.*, **7**, 1-197.
116. HUNT, W. L. and NICHOLSON, N. (1972). *Fertil. Steril.*, **23**, 763.
117. JOHNSON, J. M., HARGROVE, J. L. and ELLIS, L. C. (1971). *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **138**, 378-381.
118. JOUVENAZ, G. H., NUGTEREN, D. H., BEERTHUIS, R. K. and DORP (van), D. A. (1970). *Biochim. Biophys. Acta*, **202**, 231-234.
119. KARIM, S. (1967). *Brit. J. Pharmacol.*, **29**, 230-7.
120. KARIM, S. and DELVIN, J. (1967). *J. Obstet. Gynaec. Br. Comm.*, **74**, 230.

121. KARIM, S. (1968). *Prostaglandins, peptides an amines*. p. Eds. Mantegazza, P. y Horton, E., Academic. Press. New York & Londres.
122. KARIM, S., TRUSSELL, R., HILLIER, K. and PATEL, R. (1969). *J. Obstet. Gynec. Brit. Comm.*, **76**, 769.
123. KARIM, S. M. M. and SOMERS, K. (1972). *The Prostaglandins: Progressin Research*, 165-202. Ed. S. M. M. Karim. Lancaster.
124. KARIM, S. M. M. (1975). *Prostaglandins and reproduction*. MTP Press Ltd. St. Leonardgate Lancaster, Lances.
125. KARLSON, S. (1959). *Acta. Obstet. Gynec. Scand.*, **38**, 503.
126. KYRZROK, R. and LOEB, C. (1930). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **26**, 268.
127. LABHSETWAR, A. (1970). *J. Reprod. Fert.*, **23**, 155.
128. LABHSETWAR, A. (1971). *Nature*, **230**, 528.
129. LABHSETWAR, A. (1973). *Prostaglandins*, **4**, 1.
130. LABHSETWAR, A. (1973). *Adv. Biosci.*, **9**, 641-3.
131. LAMOND, D., TOMLINSON, R., DROST, M., HENRICKS, D. and JOCHLE, W. (1973). *Prostaglandins*, **4**, 2.
132. LARSON, G. L. and GRAHAM, E. F. (1958). *Sci. Jour. Series. Minn. Agri. Exp. Station*, paper, núm. 3.955.
133. LAUDERDALE, J. W. and FARHD, C. (1976). *Regulación de la reproducción en animales domésticos con prostaglandinas*. Ed. Academia de Ciencias Veterinarias de Barcelona.
134. LEE, J. B. (1973). *The Prostaglandins*, Col. 1, 133-188. Ed. P. W. Ramsel, London.
135. LEMARLE, W., YANG, N., BERHMAN, H., and MARSH, J. (1973). *Prostaglandins*, **3**, 3.
136. LEVY, B. and LIDNER, H. (1971). *Brit. J. Pharmacol.*, **43**, 236-41.
137. LIEHR, R., MARLON, G. and OLSON, H. (1972). *J. Anim. Sci.*, **35**, 247.
138. LIGGINS, G., GRIEVES, S., KENDALL, J. and KNOX, B. (1972). *J. Reprod. Fert.*, **16**, 85-104.
139. LOEB, L. (1923). *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, **20**, 441-443.
140. LOUIS, T., HAFS, H. and MORROX, D. (1972). *J. Anim. Sci.*, **35**, 247.
141. LUYET, G. J. and HODAPP, E. L. (1938). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **39**, 633.
142. MANDL, J. P. (1972). *J. Reprod. Fert.*, **31**, 263-269.
143. MANN, T. (1945). *Nature*, **80**.
144. MANN, T. (1974). *J. Reprod. Fert.*, **37**, 1: 179.
145. MARADONA, E. (1976). Director del C.E.N.S.Y.R.A. de León. Comunicaciones personales.
146. MARSH, J. (1971). *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **180**, 416.
147. McCACKEN, J. A. and CALDWELL, B. N. (1969). *J. Reprod. Fert.*, **20**, 139-41.
148. McCACKEN, J., CARLSSON, J., GLEW, M., CODING, J., BAIRD, D., GREEN, K. and SAMUELS-SON, B. (1972). *Nature New. Biol.*, **238**, 129.
149. MICHOLIOV, V. K. (1968). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **117**, 337.
150. MILOVANOV, V. K. (1968). *VI.º Cong. Intern. Reprod. Anim. Insem. Artif. Resumes*, 183, París.
151. Ministerio de Agricultura (junio 1974). Mapa Ganadero Nacional I: vacuno.
152. Ministerio de Agricultura (1974). *Normas para el manejo de semen congelado de toro*. Editado por la Dirección General de la Producción Agraria.
153. MIXNER, J. P. and WIGGIN, H. (1964). *V.º Cong. Intern. Rerpod. Anim. Insem. Artif.* IV, 264, Trento.
154. MODY, N. J. (1972). *Progress in Research*, 239-262. Ed. S. M. M. Karim, Lancaster.
155. MOHISI, K. and MURRAY, C. (1971). *Obstet. Gynec. Survey.*, **25**, 281-97.
156. NACHREINER, R. and MARPIE, D. (1974). *Prostaglandins*, **7**, 4.
157. NAISMITH, W., BARR, W. and McVICAR, J. (1973). *J. Obstet. Gynec. Brit. Comm.*, **80**, 6.
158. NAKANO, J. (1973). *The prostaglandins*, vol. I: 239-316. Ed. P. W. Ramwel, London.
159. NAKANO, J. (1973). *Residents end Staff Physician*, **19**, 93-106.
160. NISHIKAWA, Y. (1972). *VII.º Cong. Intern. Reprod. Anim. Insem. Artif.* Munich.
161. O'GRADY, J., CALDWELL, B., AULLETA, F., and SPEROFF, L. (1972). *Prostaglandins*, **1**, 2.
162. OLMEDO, J. (1973). *Ann. Fac. Vet. León*, **XIX**, 19 (2).
163. ORCZYK, G. and BERHMAN, H. (1972). *Prostaglandins*, **1**, 1.
164. ORIOL-BOSH, A. (1972). *Prostaglandinas*, Avances en Terapéutica. Ed. Laboratorios Farmes. Barcelona.
165. PAOLETTI, R. and PUGLISI, L. (1973). *The Prostaglandins*, vol. I, 317-326. Ed. P. W. Ramwel. London.
166. PARKES, A. S. (1956). *3rd Int. Congr. Anim. Reprod. Planary Papers. and Membership of Congress*. pp. 69-75.
167. PÉREZ y PÉREZ, F. (1966). *Reproducción e Inseminación Artificial Ganadera*. Ed. Científico Médica. Barcelona.
168. PÉREZ y PÉREZ, F. (1975). *España Ganadera*, n.º 16 y 18.
169. PHARRIS, B. (1969). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **130**, 92.
170. PHARRIS, B. (1971). *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **180**, 436.
171. PHILLIPS, P. H. (1939). *J. Biol. Chem.*, 130-415.
172. PHILLIPS, P. H. and LARDY, H. A. (1940). *J. Dairy Sci.*, **23**, 399.
173. PICKETT, B. W., FOWLER, A. K. and COWAN, W. A. (1960). *J. Dairy Sci.*, **42**, 283-285.
174. PIKE, J. E. (1971). *Cientific American*, **225**, 84.
175. PIPER, P., VANE, J. and WYLLIE, J. (1970). *Nature*, **225**, 600.
176. POLGE, C., SMITH, A. V. and PARKIS, A. S. (1949). *Nature*, 164-166; A.B.A., 18, núm. 391.
177. POLGE, C. and ROWSON, L.E.A. (1952). *Nature*, **169**, 626-627.
178. POYSER, N. (1973). *Clin. Endocr. Metab.*, **2**, 3.
179. RARINOWITZ, I., RAMWELL, P. and DAVISON, P. (1971). *Nature New. Biol.*, **233**, 88-9.
180. RANGARACHI, P. (1972). *J. Sci. Induct. Res.*, **31**, 1: 26-35.
181. RANGARAJAN, N., LACROIX, G. and MOHISI, K. (1971). *Obstet. Ginec.*, **38**, 4.
182. RAJAMANNAN, A. H. J., GRAHAM, E. G. and SMITH, F. (1964). *V.º Cong. Intern. Reprod. Anim. Insem. Artif.* vol. IV, 392, Trento.
183. ROSTRAND, J. (1946). *Comp. Red. de l'Acad. Sci.*, **222**, 1.524-25.
184. ROTH-BRANDEL, V. and ADAM, M. (1970). *Acta. Obstet. Gynec. Scand.* 49. Suppl., **5**, 7-19.
185. ROWSON, L., TERTIV, R. and BRAND, A. (1972). *J. Reprod. Fert.*, 29-145.
186. SÁNCHEZ-ALGABA GIL, P. (1975). *Suppl. Cient. Colegios Veterinarios de España*. Diciembre 75.
187. SANDBERG, F., INGELMAN-SUNDBERG, A. and RYDEN, G. (1963). *Int. J. Fert.*, **8**, 869.
188. SALISBURY, G. W., FULLER, K. H. and WILLETT, E. L. (1941). *J. Dairy Sci.*, **24**, 905.
189. SAKSENA, S. K., ELSAFOURY, S. and BARTKE, A. (1973). *Prostaglandins*, **4**, 2: 235.
190. SIKES, J. D. and MERILAND, C. P. (1958). *J. Dairy Sci.*, **41**, 205.
191. SNEDECOR, G. W. (1959). *Statistical methods*. Iowa State College Press. Ames. Iowa.
192. SONDERGAARD, J. (1973). *The Prostaglandins*, vol. I, 189-202. P. W. Ramwell editor N.Y.
193. SPEROFF, L. and RAMWELL, P. (1970). *Amer. J. Obstet. Gynecol.*, **107**, 1.111.
194. SPEROFF, L. (1974). *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **14**, 513-17.
195. SPILMAN, C. and HARPER, M. (1972). *Biol. Reprod.*, **7**, 106.
196. SPILMAN, C. and HARPER, M. (1973). *Biol. Reprod.*, **9**, 36-45.
197. SPILMAN, C., FINN, A. E. and NORLAND, J. F. (1973). *Prostaglandins*, **4**, 1: 57-64.
198. STAHL, P. (1972). *Prostaglandins*, **2**, 491.
199. STEWART, D. L., MELROSE, D. R. and WILSON, W. R. (1950). *Vet. Rec.*, **62**, 617.
200. STEWART, D. L., O'HAGAN, C. and GLOVER, F. A. (1972). *VII.º Cong. Intern. Reprod. Anim. Insem. Artif.* Munich.
201. SWANSON, E. W. (1949). *J. Dairy Sci.*, **32**, 345.
202. TAYLOR, G. S. and EINHORN, V. F. (1972). *Eur. J. Pharmacol.*, **20**, 40.
203. THORBURN, G. and NICOL, D. (1971). *J. Endocrinol.*, **51**, 785-6.
204. THORBURN, G. and HALES, J. (1972). *Proc. Aust. Physiol. Pharmac. Soc.*, **3** (2): 145.
205. THORBURN, G., NICOL, D., BASSET, J., SHUTT, P. and COX, R. (1972). *J. Reprod. Fert. Suppl.*, **16**, 16-84.
206. THORBURN, G., COX, R., CURRIES, W., RESTALL, G. and SCHEIDER, W. (1972). *J. Endocr.*, **53**, 325-6.
207. TRACKER, D. L. and ALMQVIST, J. O. (1953). *J. An. Sci.*, **10**, 1.082.
208. TSAFRIRI, A., LINDNER, H. R., ZOR, U. and LAMPRECHT, S. A. (1972). *Prostaglandins*, **2**, 1-10.
209. TSO, E. C. F. and LACY, D. (1975). *J. Reprod. Fert.*, 44-3. 545.
210. VANE, J. R. (1971). *Nature*, Lond. New. Biology., **231**, 232.
211. VANE, J. R. (1973). *Adv. Biosciences*, **9**, 395-411.
212. VARAVUDHI, D. and CHOBIDIENG, P. (1972). *Prostaglandins*, **3**, 2.
213. WALES, R. G. and WHITE, I. G. (1963). *J. Reprod. Fert.*, **5**, 67.
214. WALLER, S. (1973). *Gut*, **14**, 402-417.
215. WEEKS, J. (1969). *IV Intern. Congre. Pharmacol.* Basilea.
216. WEEKS, J. (1973). *Simp. Intern. Aspetti. Clin. Prostaglandine*. Milano.
217. WHITE, I. G. (1953). *Aust. J. Biol. Sci.*, **6**, 706.
218. WILLIS, A. L. and WEISS, H. J. (1973). *Prostaglandins*, **4**, 783-94.
219. WILSON, B. E. (1974). *Arch. Int. Med.*, **133**, 112-118.
220. YANG, N., MARSH, J. and LEMARLE, W. (1974). *Prostaglandins*, **6**, 1.
221. YOSHINASA NISHIKAWA (1964). *V.º Cong. Intern. Reprod. Anim. Insem. Artif.* vol. VII: 162, Trento.
222. ZEROBIN, K., JOCHLE, W. and STEINGRUBER, Ch. (1973). *Prostaglandins*, **4**, 6.
223. SKAKKEBAEK, N. E., KELLY, R. W. and CORKER, C. S. (1976). *J. Reprod. Fert.*, **47**, 119-121.