

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO**

**DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA, INVESTIGACIÓN  
Y SERVICIO EN ZOOTECNIA**

**POSGRADO EN PRODUCCIÓN ANIMAL**

**CRECIMIENTO DE VESÍCULAS UTERINAS EN CONEJAS  
NULÍPARAS SUPLEMENTADAS CON VITAMINA E O  $\beta$ -  
CAROTENO**

**TESIS**

**Que como requisito parcial  
para obtener el grado de:**

**MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA**

Presenta:

**LUIS MIGUEL HERNÁNDEZ VELÁZQUEZ**



DIRECCION GENERAL ACADEMICA  
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES  
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

Bajo la supervisión de:

**PhD. RAYMUNDO RODRÍGUEZ DE LARA**



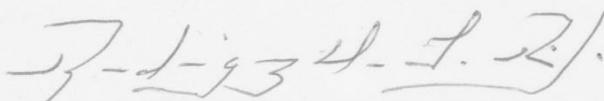
Febrero de 2020

Chapingo, Estado de México.

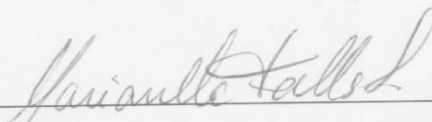
CRECIMIENTO DE VESÍCULAS UTERINAS EN CONEJAS NULÍPARAS  
SUPLEMENTADAS CON VITAMINA E O  $\beta$ -CAROTENO

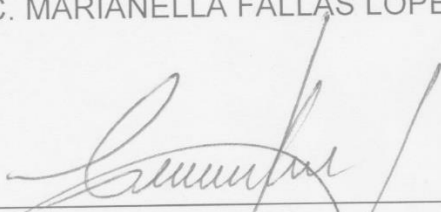
Tesis realizada por Luis Miguel Hernández Velázquez bajo la supervisión del  
Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial  
para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA**

DIRECTOR:  \_\_\_\_\_

Ph.D. RAYMUNDO RODRÍGUEZ DE LARA

ASESOR:  \_\_\_\_\_  
M.C. MARIANELLA FALLAS LÓPEZ

ASESOR:  \_\_\_\_\_  
M.C. CONSTANTINO ROMERO MÁRQUEZ

## CONTENIDO

LISTA DE CUADROS .....	v
LISTA DE FIGURAS .....	vi
DEDICATORIA.....	vii
AGRADECIMIENTOS .....	viii
DATOS BIOGRÁFICOS .....	ix
1 INTRODUCCIÓN GENERAL .....	1
Literatura citada.....	2
2 REVISIÓN DE LITERATURA .....	4
2.1 $\beta$ -caroteno.....	4
2.1.1 Descripción de los Carotenoides .....	4
2.1.2 Descripción del $\beta$ -caroteno .....	5
2.1.3 $\beta$ -caroteno como fuente de vitamina A .....	6
2.1.4 Digestión, absorción y transporte del $\beta$ -caroteno.....	7
2.1.5 Requisitos de $\beta$ -caroteno en conejos.....	7
2.1.6 $\beta$ - caroteno y su función en los parámetros reproductivos.....	8
2.2 Vitamina E.....	9
2.2.1 Importancia de la vitamina E.....	9
2.2.2 Metabolismo de la vitamina E .....	10
2.2.3 Requisitos de la vitamina E en conejos .....	11
2.2.4 Función de vitamina E .....	12
2.2.5 Vitamina E y su función en los parámetros reproductivos .....	12
2.3 Ultrasonografía.....	13
2.3.1 Definición de ultrasonografía .....	13

2.3.2 Formación del eco y ecogenicidad.....	13
2.3.3 Tipos de transductores .....	14
2.3.4 Ultrasonografía en conejas .....	15
2.3.5 Desarrollo embrionario en conejas .....	15
2.4 Literatura citada .....	16
<b>3 CRECIMIENTO DE VESÍCULAS UTERINAS EN CONEJAS NULÍPARAS SUPLEMENTADAS CON VITAMINA E O <math>\beta</math>-CAROTENO .....</b>	<b>19</b>
3.1 Introducción .....	21
3.2 Materiales y métodos .....	22
3.2.1 Animales, tratamientos y diseño experimental.....	22
3.2.2 Medio ambiente e instalaciones.....	23
3.2.3 Nutrición y alimentación.....	23
3.2.4 Procedimientos de administración para la vitamina E y el $\beta$ -caroteno...	23
3.2.5 Protocolo de inseminación artificial y manejo reproductivo.....	24
3.2.6 Variables de respuesta .....	26
3.2.7 Análisis estadístico .....	26
3.3 Resultados y discusión .....	27
3.4 Conclusiones.....	40
3.5 Literatura citada .....	41

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Estadísticos descriptivos y coeficientes de variación para peso de las hembras y dimensiones de vesículas uterinas en conejas nulíparas. ....	27
Cuadro 2. Medias de cuadrados mínimos ( $\pm$ error estándar) para los efectos de tratamiento y días de gestación en dimensiones de vesículas uterinas en conejas nulíparas. ....	29
Cuadro 3. Medias de cuadrados mínimos ( $\pm$ error estándar) para los efectos de interacción entre tratamiento y días de gestación en las dimensiones de vesículas uterinas en conejas nulíparas.....	32

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Sujeción de la coneja para realizar la ultrasonografía.....	25
Figura 2. Relación entre días de gestación y diámetro de vesículas uterinas en conejas nulíparas. ....	39
Figura 3. Relación entre días de gestación y volumen de las vesículas uterinas en conejas nulíparas. ....	39
Figura 4. Relación entre días de gestación y área de las vesículas uterinas en conejas nulíparas. ....	40

## **DEDICATORIA**

**A mi esposa e hijos por el impulso y apoyo incondicional.**

**A mis padres y hermanos por su incondicional apoyo.**

**A mis amigos por el apoyo y los momentos compartidos.**

**A mis maestros por la gran orientación que me brindaron.**

## **AGRADECIMIENTOS**

**Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo brindado para mis estudios de posgrado.**

**A la Universidad Autónoma Chapingo, al Departamento de Zootecnia y sobre todo al Posgrado en Producción Animal por acogerme en sus instalaciones.**

**A “Conejos” Centro de Investigación Científica del Estado de México A. C. (COCICEMAC), por brindarme el espacio para mi fase experimental.**

**Al Ph.D. Raymundo Rodríguez de Lara, por su amistad, apoyo y dirección de esta tesis.**

**A la Dra. Marianella Fallas López por su amistad y apoyo en esta tesis.**

**Al Ing. José Sosa por la capacitación brindada.**



## DATOS BIOGRÁFICOS



## DATOS PERSONALES

Nombre: **Luis Miguel Hernández Velázquez**  
Fecha de nacimiento: **2 de febrero de 1992**  
Lugar de nacimiento: **Texcoco, Estado de México**  
Profesión: **Ingeniería en Sistemas Pecuarios**  
Cédula profesional: **10115800**

## FORMACIÓN ACADEMICA

2004-2007. Escuela Secundaria Técnica e Industrial "José Ma. Morelos y Pavón" No. 55.

2007-2010. Preparatoria Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo.

2010-2014. Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas (URUZA), Universidad Autónoma Chapingo.

2017-2019. Posgrado en Producción Animal, Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo.

## 1 INTRODUCCIÓN GENERAL

Por sus altos índices de reproducción, producción y calidad de la canal, el conejo es una especie que cuenta con mayor potencial productivo en comparación con los porcinos y bovinos para el abastecimiento de carne (Shimada, 2009). En los sistemas de producción intensiva actuales, el ciclo reproductivo demanda que se cubra a las hembras aproximadamente 11 días después del parto y se destete a los gazapos a los 30 días de edad, obteniendo un máximo de 8.5 partos por año y un intervalo mínimo entre partos de 42 días. Como consecuencia de esto, las conejas tienen elevadas necesidades nutritivas y de consumo por unidad de peso vivo, por lo que se requiere suministrar una alimentación que cubra todas las exigencias nutritivas de los animales, para así lograr el máximo potencial productivo de las conejas (De Blas & Nicodemus, 2001).

Méndez, De Blas, y Fraga (1986) mencionan que, en condiciones de un déficit nutricional, las conejas deben movilizar parte de sus reservas corporales. Lo que da lugar a un descenso del 10% de la tasa de fertilidad y en la producción de leche, teniendo como consecuencia una reducción de hasta un 26% en el peso de la camada al destete (Fraga, Lorente, Carabaño, & De Blas, 1989).

Tanto el  $\beta$ -caroteno, precursor de la vitamina A, como la vitamina E, son esenciales, puesto que intervienen en la formación y protección de los tejidos epiteliales y membranas de la célula; dicha actividad tiene especial importancia, durante el crecimiento, la reproducción y la respuesta inmune (McDonald, Greenhalgh, & Morgan, 2002). Cabe destacar, que su acción como antioxidantes es la responsable de la mayor parte de sus efectos en el organismo (Quintela, Becerra, Díaz, & Garcia-Herradón, 2008), y tanto una deficiencia como una sobre dosis de algunas de ellas, es capaz de comprometer el desarrollo embrionario (Gould, Itasaki, & Krumlauf, 1998; Tek, Kilicarslan, & Sabuncu, 2002).

Por otra parte, existe poca información sobre la relación del crecimiento de las vesículas uterinas al suplementar con vitamina E o  $\beta$ -caroteno. Por lo cual, el objetivo del presente estudio fue evaluar el suplemento con  $\beta$ -caroteno o vitamina E sobre el diámetro, volumen y área de las vesículas uterinas en conejas nulíparas.

En el Capítulo 2 se presenta una revisión de literatura en donde se explican las características, procesos metabólicos de la vitamina E y el  $\beta$ -caroteno, además, se muestra información acerca de cómo realizar una ultrasonografía y el desarrollo embrionario de los conejos. En el Capítulo 3 se presenta el artículo científico en donde se muestran los efectos de la vitamina E y el  $\beta$ -caroteno sobre las dimensiones de las vesículas uterinas.

### **Literatura citada**

- De Blas, C., & Nicodemus, N. (2001). Interacción nutrición-reproducción en conejas reproductoras. XVII Curso de Especialización. Avances en Nutrición y Alimentación Animal. FEDNA. Madrid, España. pp, 71-92.
- Fraga, M. J., Lorente, M., Carabaño, R. M., & De Blas, J. C. (1989). Effect of diet and of remating interval on milk production and milk composition of the doe rabbit. *Animal Production*, 48(02), 459–466. <https://doi.org/10.1017/S0003356100040460>
- Gould, A., Itasaki, N., & Krumlauf, R. (1998). Initiation of rhombomeric Hoxb4 expression requires induction by somites and a retinoid pathway. *Neuron*, 21(1), 39–51. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80513-9](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80513-9)
- McDonald, P., Greenhalgh, J., & Morgan, C. (2002). *Nutricion Animal*. Editorial Acribia. México.
- Méndez, J., De Blas, C., & Fraga, M. J. (1986). The effects of diet and remating interval after parturition on the reproductive performance of the commercial doe rabbit. *Animal Science*, 62(6), 1624–1634. <https://doi.org/https://doi.org/10.2527/jas1986.6261624x>
- Quintela, L. A., Díaz, C., Becerra, J. J., Alonso, G., Gracia, S., & Herradón, P. G. (2008). Papel del beta-caroteno y la vitamina A en la reproducción en el ganado vacuno : revisión. *Información Técnica Económica Agraria*, 104(3), 399–410.

- Sevgi, Tek, Rag Yp Kilicarlan, M., & Sabunco, A. (2002). Tavslarlarda beta karoten in fertiliti Üzerine etkisi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 26(3), 497–502.
- Shimada M., A. (2009). *Nutrici3n Animal* (Trillas). M3xico.

## 2 REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 $\beta$ -caroteno

#### 2.1.1 Descripción de los Carotenoides

Tradicionalmente, los carotenoides se nombraron en función de la fuente de la que se aislaron por primera vez; así, el término caroteno proviene del nombre científico de la zanahoria (*Daucus carota* L.) (Meléndez-Martínez, Vicario, & Heredia, 2007). Químicamente, de acuerdo con Carranco, Calvo, y Pérez-Gil, (2011), los carotenoides son tetraterpenos constituidos por unidades múltiples de isopreno con un anillo de ciclohexano sustituido e insaturado en cada uno de los extremos. Existen dos tipos de carotenoides: las *xantofilas*, que contienen oxígeno en sus anillos terminales y los *carotenos* que no los tienen. Estos últimos tienen dos funciones principales: la primera es actuar como un potente antioxidante, la segunda es un precursor de la vitamina A (Latham, 2002; Ngamwonglumlert & Devahastin, 2019; Rock, 1997). Las funciones oxigenadas más comunes son los grupos hidroxilo (OH) y epoxi (epóxidos 5,6- o 5,8-), también se encuentran los grupos aldehído (CHO), ceto (C=O), carboxi (CO<sub>2</sub>H), carbometoxi (CO<sub>2</sub>Me) y metoxi (Ome). Se han aislado y caracterizado más de 600 carotenoides (Carranco et al., 2011).

Cabe destacar que las funciones y acciones de los carotenoides están determinadas por las propiedades físicas y químicas de las moléculas; primero, la geometría integral molecular (tamaño, tipo y presencia de grupos funcionales) que es vital para asegurar que el carotenoide es afín con las estructuras celulares y subcelulares, en la localización y orientación correcta que permite una función eficiente; segundo, el sistema de dobles enlaces conjugados determina las propiedades fitoquímicas y reactividad química que forma la base de estas funciones. Además, las interacciones específicas con otras moléculas cercanas inmediatas, son cruciales para el funcionamiento correcto (Carranco et al., 2011).

La característica distintiva de los carotenoides es el extenso sistema de dobles enlaces conjugados, denominado cadena poliénica. Esta parte de la molécula conocida como cromóforo, es responsable de la capacidad de los carotenoides de absorber luz en la región visible, y en consecuencia, de su gran capacidad de coloración (Amparo et al., 2009; Meléndez-Martínez et al., 2007).

### **2.1.2 Descripción del $\beta$ -caroteno**

El nombre de  $\beta$ -caroteno proviene del griego “beta” y del latín “carota” (zanahoria), este compuesto es un pigmento de color naranja. El crédito por ese descubrimiento fue para el farmacéutico alemán Heinrich Wilhelm Ferdinand Wackenroder en 1931; 16 años después William Christopher Zeise lo describió como un hidrocarburo (Sourkes, 2009).

El  $\beta$ -caroteno ( $C_{40} H_{56}$ ) es el miembro más importante de los carotenos cíclicos, isoprenoides, que se caracteriza por su naturaleza polinsaturada. Este compuesto es un pigmento natural presente en algunas plantas y pueden existir en diferentes formas geométricas (isómeros *cis* o *trans*); sin embargo, la mayoría se encuentra en forma *trans*, es el precursor de la vitamina A (retinol) y por ende se denomina “Provitamina A”. Este cuenta con dos anillos  $\beta$ -ioneno, lo que le permite tener dos veces más actividad que los otros carotenoides. Su principal función biológica en los mamíferos es como provitamina, y su conversión está regulada por los niveles de vitamina A en el organismo (Carranco et al., 2011; McDonald et al., 2002; Meléndez-Martínez et al., 2007).

Otra función del  $\beta$ -caroteno en el organismo, y de la que derivan la mayor parte de sus efectos, es su acción antioxidante. Así, su papel principal es proteger al organismo de los radicales libres producidos durante el metabolismo oxidativo normal del organismo. Un radical libre es una molécula (orgánica o inorgánica), extremadamente inestable; por tanto, con gran poder reactivo que actúa

alterando a las membranas celulares y atacando el material genético de las células (Quintela et al., 2008)

### **2.1.3 $\beta$ -caroteno como fuente de vitamina A**

El  $\beta$ -caroteno constituye la fuente principal de la vitamina A en las raciones de los animales. La vitamina A ( $C_{20}H_{29}OH$ ) es un alcohol poliénico isoprenoide que se conoce como: retinol, axeroftol, biosterol, vitamina antixeroftálmica y vitamina antiinfecciosa. Entre sus funciones principales, destaca que es esencial para la vista, pero también para el adecuado desarrollo de huesos y músculos, para integración de epitelios y la adecuada funcionalidad del sistema inmune, y para evitar alteraciones genéticas y buena funcionalidad reproductiva (Quintela et al., 2008). En este sentido, De Blas y Nicodemus (2001) mencionan que la adición de vitamina A en la dieta es esencial para la reproducción y la respuesta inmunitaria, al intervenir en numerosos procesos metabólicos. Por otra parte, un exceso ( $> 90$  mUI/kg) da lugar a síntomas similares a la deficiencia, con una disminución de la fertilidad y un aumento de la reabsorción de fetos y de la incidencia de abortos en conejas. También son característicos los problemas de hidrocefalia en gazapos recién nacidos.

Amparo et al. (2009) mencionan que la conversión  $\beta$ -caroteno a vitamina A ocurre en los enterocitos del intestino delgado y el hígado, donde por medio de un corte es catalizada por una dioxigenasa dependiente de oxígeno. Este corte en teoría debería dar dos moléculas intermedias de retinol aldehído, después se reduce a alcohol para formar retinol. Además, indica que la vitamina A formada, junto con el resto del betacaroteno se incorpora a las micelas lipídicas (quilomicrones) para atravesar las células del intestino y llegar al hígado, donde la conversión a vitamina A continúa a menor grado, por medio de difusión pasiva.

#### **2.1.4 Digestión, absorción y transporte del $\beta$ -caroteno**

De acuerdo con Pomarolli y Pizarro (2016), el retinol libre es absorbido tanto por difusión facilitada por la fase micelar como por transporte activo mediada por la proteína celular fijadora de retinol tipo II (CRBP-II). Después, estos compuestos son convertidos a retinol por medio de la enzima retinaldehído reductasa. Finalmente, las moléculas de retinol son re-esterificadas por acción de la enzima lecitin-retinol acetil transferasa (LRAT) contenida en los microsomas. Estos ésteres de retinol junto con retinol en forma libre y algunos carotenoides que no han sido hidrolizados previamente, sumado a ésteres de colesterol, fosfolípidos, triglicéridos y apolipoproteínas, son incorporados a los quilomicrones para ser secretados a la linfa y eventualmente entran al sistema cardiovascular. Los ésteres de retinol captados por los hepatocitos se hidrolizan nuevamente a retinol, el cual puede re-esterificarse a través de retinil ester hidrolasa (REH) y almacenarse en las células estrelladas del hígado, o puede unirse a la proteína transportadora de retinol (RBP) y transtiretina (TTR) para transportarse a los tejidos diana, donde el complejo es reconocido por el receptor celular estimulado por el ácido retinoico  $\alpha$  (STRAR) y el retinol es catabolizado a retinal a través de RDH, posteriormente a ácido retinoico (AR), el cual activa a receptores nucleares RAR  $\alpha$ , RAR  $\beta$  y RAR, y enlazando elementos respuesta en genes específicos que pueden aumentar o disminuir la expresión del gen. Además *9 cis* AR activa a otros tres receptores nucleares, RXR  $\alpha$ , RXR  $\beta$  y RXR, por lo que hay cientos de genes que pueden ser inducidos o reprimidos por los retinoides.

#### **2.1.5 Requisitos de $\beta$ -caroteno en conejos**

De Blas y Nicodemus (2001) indican que en conejas reproductoras la vitamina A es esencial para la reproducción; sin embargo, cuando se suministra por encima de los requerimientos se tiene un efecto negativo en la reproducción, por lo que Lebas (2000) sugiere que en su lugar se suplemente con  $\beta$ -caroteno, el cual es convertido en retinol por la mucosa intestinal.



Algunos autores recomiendan 40 ppm de  $\beta$ -caroteno por kg de alimento, se indica que no existe una dosis letal para los conejos, ya que el  $\beta$ -caroteno se utiliza de acuerdo con sus necesidades fisiológicas, y el exceso se desecha; sin embargo, cuando hay un exceso de este, la piel se tiñe naranja al igual que las excretas y orina (Burchenalb, Keaney, Curran-celentanod, Vita, & Michael, 1996; Lebas, 2000; Sevgi et al., 2002).

En el mismo sentido, Castellini, Lattaioli, y Setta, (1992) mencionan que el suministro de 59.8 ppm de  $\beta$ -caroteno en conejos tiene efecto positivo en la tasa de fecundidad y el tamaño de la camada, y el porcentaje de mortalidad en gazapos disminuye y tienen una mejor ganancia de peso.

#### **2.1.6 $\beta$ - caroteno y su función en los parámetros reproductivos**

Aparte de ser el precursor natural de la vitamina A, el  $\beta$ -caroteno influye de manera significativa, y posiblemente de forma independiente, en la capacidad reproductiva. Se ha demostrado la existencia de sistemas oxidativos y anti oxidativos en tejidos del aparato reproductor de las hembras; así mismo, se ha comprobado que el fluido folicular contiene elevadas concentraciones de antioxidantes para proteger a los ovocitos del daño producido por los radicales libres (Guérin, El Mouatassim, & Ménézo, 2001; Herrera & García, 2008).

Estudios en bovinos han demostrado que existen altas concentraciones de  $\beta$ -caroteno en los folículos y que está asociado con los parámetros reproductivos, ya que interviene de manera positiva en la calidad folicular y del óvulo, además se muestra una concentración más alta de progesterona, esto se debe a que el  $\beta$ -caroteno reduce los radicales libres generados por la esteroidogénesis, de esta forma, ayuda a eludir la muerte embrionaria temprana (Quintela et al., 2008).

Se ha observado también que el  $\beta$ -caroteno influye sobre la síntesis de progesterona en células cultivadas del cuerpo lúteo, el tejido con la mayor concentración de éste en donde su participación en la división del cuerpo lúteo

indica una conversión del  $\beta$ -caroteno a vitamina A en el tejido blanco, por lo que se ha especulado que sea el responsable de las altas concentraciones de vitamina A en folículos no atrésicos, comparados con los atrésicos. La actividad divisoria del cuerpo lúteo del  $\beta$ -caroteno está significativamente correlacionada con los parámetros que indican calidad folicular, tales como la concentración intrafolicular de  $17\beta$ -estradiol, el estradiol, la relación estradiol: progesterona y retinol, y no tanto como una función del tamaño de los folículos (Schweigert, Wierich, Rambeck, & Zucker, 1988).

Lebas, (2000) indica que las recomendaciones de vitamina A fluctúan de las 3000 a las 20000 UI sin repercusión alguna, pero cuando se exceden las 75000 UI se pueden producir trastornos en la reproducción, y para el caso de la vitamina E solo se menciona que el óptimo es 50 ppm.

## **2.2 Vitamina E**

### **2.2.1 Importancia de la vitamina E**

La vitamina E fue descubierta por Evans y Bishop, (1922), en donde lo describen como un nutrimento soluble en grasas indispensable para la reproducción en ratas. La Vitamina E ( $C_{29}H_{50}O_2$ ) engloba una serie de compuestos de tocoferoles ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , y  $\delta$ ), donde el  $\alpha$ - tocoferol es el más importante, ya que tiene una mayor actividad biológica y es el más abundante (McDonald et al., 2002). El nombre de tocoferol proviene de etimología griega *tokos* (nacimiento) y *pherein* (manifestar o poner a la luz). El sufijo -ol se añadió para indicar la naturaleza alcohólica de la sustancia (Mahan & Arlin, 1995). Los alimentos más ricos en Vitamina E son los aceites de origen vegetal, granos de cereales y forrajes verdes; sin embargo, su estructura es muy inestable y se ve comprometida por la presencia de minerales, la rancidez oxidativa de los ácidos grasos no saturados, y el calor y la humedad, por lo que es necesario incorporarla con antioxidantes como la etoxiquina, con el objeto de proteger a la Vitamina E (Shimada, 2009).

La vitamina E está formada por un grupo de ocho vitámeros. Su estructura consta de dos partes primarias: un anillo complejo cromano y una larga cadena lateral. Estos ocho vitámeros se dividen en dos grupos fundamentales: 4 tocoferoles y 4 tocotrienoles que se diferencian en la saturación de la cadena lateral; los tocoferoles tienen una cadena saturada y los tocotrienoles una insaturada con 3 dobles enlaces en los carbonos 3, 7 y 11. Dentro de cada grupo, los vitámeros difieren en el número y posición de los grupos metilo en el anillo cromano, designándose como  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , y  $\delta$  (Sayago, Marín, Aparicio, & Morales, 2007).

La vitamina E es un compuesto esencial, puesto que el organismo no puede sintetizarla, por lo que su aporte se realiza a través de la dieta en pequeñas cantidades. Para una eficiente absorción por el organismo requieren de la presencia de ácidos grasos, de la bilis, y de enzimas lipolíticas del páncreas y la mucosa intestinal (Sayago et al., 2007).

La vitamina E se ha considerado el antioxidante liposoluble más importante, localizado en el medio hidrofóbico de las membranas biológicas, cuya principal función es actuar como antioxidante natural, ya que reacciona con los radicales libres que se generan en la fase lipídica, protegiendo a los lípidos de las membranas; además, desempeña una función fisicoquímica en el ordenamiento de las membranas lipídicas, estabilizando las estructuras de membrana (Amparo et al., 2009).

### **2.2.2 Metabolismo de la vitamina E**

Blé-Castillo, Díaz-Zagoya, y Méndez (2008) mencionan que las cuatro formas de  $\alpha$ -tocoferol (AT) son absorbidas junto con los lípidos de la dieta en la parte proximal del intestino y se liberan en la linfa para ser transportadas a las células por los quilomicrones. Después de la hidrólisis por las lipasas, parte de los tocoferoles transportados se libera de los quilomicrones a los tejidos periféricos. Los quilomicrones remanentes llevan la vitamina E remanente hacia el hígado,

principalmente a través de la vía del receptor de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y entonces la Vitamina E es específicamente reconocida por la proteína transportadora de AT ( $\alpha$ -TTP), este paso sólo ocurre en el hígado, se incorpora en las lipoproteínas de muy baja densidad y se redistribuye a los tejidos periféricos en las LDL y las lipoproteínas de alta densidad vía el receptor de LDL. Las otras isoformas de tocoferol ( $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ , y también el exceso de  $\alpha$ ) y las tocoferilquinonas son metabolizadas y eliminadas. De este modo la vía mediada por la  $\alpha$ -TTP es esencial para mantener concentraciones adecuadas de AT en el plasma. En las células, los tocoferoles modulan las actividades de algunas enzimas (PKC/PP2A, 5-lipooxigenasa, fosfolipasa A2, ciclooxigenasa-2, NADPH-oxidasa, SOD, NOS), o también en forma directa o indirecta, influyen la expresión de varios genes involucrados en la arterioesclerosis (CD36, CTGF, integrinas, citocinas, etc). Varias proteínas transportadoras de tocoferoles (TAP, TBP) podrían estar involucradas en la distribución correcta de los cuatro tocoferoles hacia las lipoproteínas, los organelos (Golgi, mitocondria, núcleo, retículo endoplásmico), enzimas, transportadores y factores de transcripción, y en esta forma confieren especificidad a los diferentes tocoferoles en la célula.

### **2.2.3 Requisitos de la vitamina E en conejos**

De Blas y Wiseman (2010) mencionan que la dosis recomendada de Vitamina E depende de la cantidad y perfil de ácidos grasos suministrados en la dieta, debido a la composición de estos y su susceptibilidad a la oxidación, los autores sugieren de 15 a 50 mg de Vitamina E  $\text{kg}^{-1}$  para conejos en engorda. De manera similar, Shimada (2009) estima que los conejos en situación de engorda, gestación y lactancia necesitan 40 mg  $\text{kg}^{-1}$  de alimento. Lebas (2000) comenta que el requerimiento diario mínimo es de 25 mg  $\text{kg}^{-1}$  de Vitamina E, pero recomienda que se suministren de 40 a 50 mg  $\text{kg}^{-1}$  en etapas de engorda y lactancia. De Blas y Nicodemus (2001) mencionan que, dada la tolerancia de los conejos a niveles altos de tocoferol en la dieta, las dosis pueden estar por encima

de las necesidades, pero solo en situaciones que impliquen una mayor respuesta inmunitaria.

#### **2.2.4 Función de vitamina E**

La Vitamina E funciona fundamentalmente como antioxidante biológico; protege a las células de las lesiones oxidativas provocadas por los radicales libres, por ejemplo, es el primer antioxidante liposoluble contra el daño oxidativo en los eritrocitos y plasma. Además, protege los lípidos tisulares del ataque de radicales libres. Al mismo tiempo, esta se asocia con la estabilidad de la membrana de las células del sistema inmune y su deficiencia se asocia con bajos niveles de producción de inmunoglobulina. Esta vitamina provoca la disminución de la producción de prostaglandinas, y recientemente se le ha relacionado a la apoptosis (muerte celular) para la eliminación de células tumorales (Febles, Soto, Saldaña, & García, 2002).

#### **2.2.5 Vitamina E y su función en los parámetros reproductivos**

Febles et al. (2002) mencionan que con la adición de Vitamina E y Selenio en vacas mejora la tasa de preñez con la expresión temprana al parto, aun en estrés calórico. Por otra parte, un estudio en cerdos mejoró el tamaño y peso de los fetos; sin embargo, los niveles de Vitamina E en el tejido eran bajos (Farnworth, Butler, & Hidiroglou, 1995). En el mismo sentido, en un estudio con conejos se mejoraron la motilidad espermática y el volumen con la adición de vitaminas E y C (Najjar et al., 2013).

## **2.3 Ultrasonografía**

### **2.3.1 Definición de ultrasonografía**

La ultrasonografía se basa en la representación gráfica de la reflexión de los ultrasonidos al chocar con los distintos tejidos del organismo, esto produce en el equipo una imagen seccional de la zona explorada (Cuenca et al., 2014).

### **2.3.2 Formación del eco y ecogenicidad**

Cuenca et al. (2014) mencionan que con la ecografía somos capaces de distinguir los diferentes tejidos u órganos, gracias a sus diferencias en la capacidad de conducir la onda de ultrasonido (OU). Díez, (1992) menciona que al atravesar los órganos, las ondas sufren una serie de modificaciones que conducen a la atenuación del sonido, lo que limita la profundidad de penetración de la OU, y las causas principales de esto son: la reflexión que se produce cuando las OU pasan de un tejido determinado a otro de diferente densidad, la diferencia de densidad existente determina la cantidad de ondas reflejadas; la refracción que es el cambio en la dirección de las OU, las cuales se pierden al no volver al transductor, contribuyendo a la atenuación; la dispersión es cuando las OU chocan en múltiples direcciones en una superficie pequeña e irregular; y la absorción cuando la energía es absorbida por los tejidos y convertida en calor, produciendo pérdida constante en la intensidad.

Así mismo, Cuenca et al. (2014) indican que las imágenes ecográficas están formadas por puntos de diferente brillo; cuanto más intenso sea el eco reflejado por una determinada estructura, más brillante aparecerá entonces la imagen. A esta intensidad de brillo se le conoce como ecogenicidad. De esta manera, las imágenes se describen como:

1. Hiperecogénico, hiperecoico: se produce una gran reflexión de OU (escasa o nula transmisión). Los puntos en el monitor aparecen con una intensidad de brillo máxima, es decir, blancos (gas, hueso).
2. Hipoecogénico, hipoecoico: se produce una reflexión media (transmisión media), teniendo los puntos distinta intensidad de gris, según la cantidad de ecos producidos (tejidos blandos). Para comparar la ecogenicidad de los tejidos entre sí, se utiliza esta terminología de forma comparativa, es decir, que un tejido puede ser hiper, hipo o iso-ecogénico con respecto a otro.
3. Anecogénico, anecoico: ausencia de ecos por no producirse reflexión de OU (transmisión completa). Los puntos aparecerán de color negro (líquidos).

### **2.3.3 Tipos de transductores**

Cuenca et al. (2014) consideran que el haz del ultrasonido se produce en el transductor, que aprovecha el efecto piezoeléctrico de ciertos cristales naturales como el cuarzo (o en la actualidad de porcelanas sintéticas). Este efecto convierte la energía eléctrica en energía mecánica. Inicialmente una estimulación de alto voltaje del cristal hace que vibre a su frecuencia de resonancia, generando así el ultrasonido. El material piezoeléctrico también puede convertir la energía mecánica en eléctrica, lo que permite que el transductor pueda enviar y recibir ondas acústicas. De manera fundamental tenemos tres tipos de transductores: 1) transductor sectorial: genera una imagen en abanico que es muy estrecha en las proximidades del transductor y que se va haciendo cada vez más ancha a medida que aumenta la profundidad de penetración, una ventaja de este tipo de transductor es que permite obtener la imagen a través de los espacios intercostales; 2) transductor lineal: envía hacia el tejido ondas de ultrasonido paralelas entre sí, produciendo una imagen rectangular, una ventaja es la buena resolución espacial cercana al transductor;

y 3) transductor convexo: es un tipo mixto entre los anteriores, éste es el que se aplica fundamentalmente en la ecografía de abdomen.

#### **2.3.4 Ultrasonografía en conejas**

Desde la década de los 80, la ultrasonografía en tiempo real se convirtió en una alternativa para estudios tempranos de preñez; este método de diagnóstico es preciso a partir de los siete días de desarrollo embrionario, además ha permitido la creación de datos para estudios de tiempos de detección de embarazos, estimación de la edad fetal y crecimiento fetal, además de permitir diagnosticar embarazos extrauterinos, tumores de ovario, abscesos, quistes, piometra e hidrómetra en conejas (Varga, 2013).

Ypsilantis y Saratsis (1999) mencionan que las vesículas embrionarias, al ser estructuras que contienen líquido transparente, se ven en la ultrasonografía como esferas anecoicas, porque producen imágenes oscuras rodeadas por la capa trocoblástica ecogénica y la pared uterina engrosada. A los siete días de gestación, las vesículas embrionarias tienen un diámetro entre 4.5 y 5.9 mm, y se dificulta su detección; a los ocho días de gestación tienen diámetros de 8 a 9.5 mm, y se observan como esferas perfectas oscuras; a los nueve días de gestación tienen un diámetro de 12 mm y el desarrollo del blastocito es fácilmente detectable, y a los diez días de gestación las vesículas embrionarias se expanden hasta un diámetro de 17 mm, se distinguen fácilmente.

#### **2.3.5 Desarrollo embrionario en conejas**

De acuerdo con Beaudoin, Barbet, y Bargy (2003), el desarrollo del embrión se logra hasta los 19 días, iniciando su revisión en el día ocho: ocho días aparecen los primeros somitas, cierre del neuróporo rostral; nueve días aparece yema del miembro rostral, pedículo embrionario, cierre de la neuróporo caudal, vesícula cerebral, arcos faríngeos y vesícula óptica completa; diez días se presenta curvatura dorsal en forma de C, yema del miembro caudal, hinchazón cardíaca



prominente y cuatro arcos faríngeos; 11 días se observan tres vesículas cerebrales; placa óptica y cresta mesonéfrica; 12 días hay presencia de extremidades de rayos de rueda, se cierra la vesícula de la lente, cinco vesículas cerebrales, yemas faciales y vértebras; 13 días se observa la placa de pie; rayos de dedos; hígado prominente; asas intestinales y montículos auriculares; 14 días se muestra el cuerpo cuboidal, el tronco se endereza, extremidades paralelas, rayos del dedo del pie, la cara está modelada y la aurícula visible; 15 días se observan los dedos alargados y muescas entre los rayos del dedo del pie; 16 días hay dedos de los pies y yema cecal en la hernia intestinal; 17 días se observa la rodilla, el cuello y párpados; 18 días las manos y los pies se unen en la línea media, la pared abdominal cerrada, y los párpados cubren los ojos; 19 el aspecto fetal completo y organogénesis lograda.

#### 2.4 Literatura citada

- Beaudoin, S., Barbet, P., & Bargy, F. (2003). Developmental stages in the rabbit embryo: Guidelines to choose an appropriate experimental model. *Fetal Diagnosis and Therapy*, 18, 422–427. <https://doi.org/10.1159/000073136>
- Blé-Castillo, J. L., Díaz-Zagoya, J. C., & Méndez, J. D. (2008). Suplementación con vitamina E, ¿benéfica o dañina? *Gaceta Médica de México*, 144(2), 147–154.
- Burchenalb, J. E. B., Keaney, J. F., Curran-celentanod, J., Vita, J. A., & Michael, J. (1996). The lack of effect of p-carotene on restenosis in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis*, 123, 157–167. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0021-9150\(96\)05801-7](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0021-9150(96)05801-7)
- Carranco J., E. M., Calvo, C., & Pérez-Gil Romo, F. (2011). Carotenoides y su función antioxidante: revisión. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 61(3).
- Castellini, C., Lattaioli, P., & Setta, B. (1992). The effect of beta-carotene on the productive performance of brood-doe rabbits and bunnies. *Rivista Di Coniglicoltura*.
- Cuenca M., B., González G., M., Garre S., C., Gil, L. A., Gómez, R. Á., López, A., & Souto, J. (2014). *Tratado de Ultrasonografía Abdominal*. Díaz de Sa. Madrid, España.

- De Blas, C., & Nicodemus, N. (2001). Interacción nutrición-reproducción en conejas reproductoras. *Fundacion Española para el Desarrollo de la Nutricion Animal* (pp. 71–92).
- De Blas, C., & Wiseman, J. (2010). *Nutrition of Rabbit, 2nd Edition* (CABI). Cambridge, MA, USA.
- Díez , N. (1992). Principios básicos de la ecografía. *Clínica Veterinaria de Pequeños Animales*, 12(3).
- Evans, H. M., & Bishop, K. S. (1922). On the existence of a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction. *Science*, 56(1458), 650–651. <https://doi.org/10.1126/science.56.1458.650>
- Farnworth, E., Butler, G., & Hidiroglou, D. (1995). Fetal pig vitamin e status. *Nutrition Research*, 15(8), 1139–1147. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0271-5317\(95\)00073-R](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0271-5317(95)00073-R)
- Febles, C., Soto, C., Saldaña, A., & García, B. (2002). Funciones de la vitamina E. *Revista Cubana Estomatol*, 40(1), 28–32.
- Guérin, P., El Mouatassim, S., & Ménézo, Y. (2001). Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. *Human Reproduction Update*, 7(2), 175–189. <https://doi.org/10.1093/humupd/7.2.175>
- Herrera, C. A. M., & García, G. A. (2008). Beta carotene supplementation , ovarian activity and sericeous levels of insulin type 1 growth factor in goats under increased photoperid, *Revista Chapingo Serie Orticultura*, 7(1), 83–90.
- Latham, M. (2002). Nutrición humana en el mundo en desarrollo. *FAO*. Retrieved from <http://www.fao.org/3/w0073s/w0073s00.htm#Contents> consultada el 13 de noviembre de 2019.
- Lebas, F. (2000). Vitamins in rabbit nutrition: Literature review and recommendations. *World Rabbit Science*, 8(4), 185–192.
- Mahan, L., & Arlin, M. (1995). *Nutrición y Dietoterapia* (Interamericana). USA.
- McDonald, P., Greenhalgh, J., & Morgan, C. (2002). *Nutrición Animal*. Editorial Acribia. México.
- Meléndez- Martínez, A., Vicario, I., & Heredia, F. (2007). Pigmentos carotenoides. consideraciones estructurales y fisicoquímicas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 57(2).
- Méndez, J., De Blas, C., & Fraga, M. J. (1986). The effects of diet and remating interval after parturition on the reproductive performance of the commercial doe rabbit. *Animal Science*, 62(6), 1624–1634. <https://doi.org/https://doi.org/10.2527/jas1986.6261624x>

- Najjar, A., Saïd, B., Najjar, T., Kalamoun, S., Khalifa, N. B., Aïcha, E. B., & Mrad, M. B. (2013). Influence of vitamins C and E on sperm motility of rabbit bucks. *World Rabbit Science*, 1174(May), 45–48. <https://doi.org/10.4995/wrs.2013.1174>
- Ngamwonglumlert, L., & Devahastin, S. (2019). Carotenoids. *Encyclopedia of Food Chemistry*, 40–52. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814026-0.21608-9>
- Pomarolli R.i, G., & Pizarro A., F. (2016). *Efecto del retinol palmitato y B-caroteno sobre la disponibilidad de hierro no hemínico en mujeres de edad fértil (INTA)*. Retrieved from [http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/143605/Tesis\\_Giannina\\_Pomarolli.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/143605/Tesis_Giannina_Pomarolli.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Quintela, A. L., Becerra, J. J., Díaz, C., & Garcia Herradón, P. (2008). Papel del beta-caroteno y la vitamina A en la reproducción en el ganado vacuno: revisión. *Información Técnica Económica Agraria*, 104(3), 399–410.
- Rock, C. L. (1997). Carotenoids: Biology and treatment. *Pharmacology & Therapeutics*, 75(3), 185–197. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0163-7258\(97\)00054-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0163-7258(97)00054-5)
- Sayago, A., Marín, M. I., Aparicio, R., & Morales, M. T. (2007). Vitamina E y aceites vegetales, 3495(1), 74–86.
- Schweigert, F. J., Wierich, M., Rambeck, W. A., & Zucker, H. (1988). Carotene cleavage activity in bovine ovarian follicles. *Theriogenology*, 30(5), 923–930. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(88\)80054-2](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(88)80054-2)
- Sevgi, T., Rag Yp Kilicarslan, M., & Sabunco, A. (2002). Tavslanlarda beta karoten in fertilitate Üzerine etkisi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 26(3), 497–502.
- Shimada M., A. (2009). *Nutrición Animal* (Trillas). México.
- Sourkes, T. L. (2009). The discovery and early history of carotene. *Bulletin for the History of Chemistry*, 34(1), 32–38.
- Spiegler, E., Kim, Y. K., Wassef, L., Shete, V., & Quadro, L. (2012). Maternal-fetal transfer and metabolism of vitamin A and its precursor  $\beta$ -carotene in the developing tissues. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1821(1), 88–98. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2011.05.003>
- Varga, M. (2013). *Textbook of Rabbit Medicine* (Butterwort, Vol. 2). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/C2011-0-05821-0>
- Ypsilantis, P., & Saratsis, P. (1999). Early pregnancy diagnosis in the rabbit by real time ultrasonography. *World Rabbit Science*, 7(2), 95–99.

### 3 CRECIMIENTO DE VESÍCULAS UTERINAS EN CONEJAS NULÍPARAS SUPLEMENTADAS CON VITAMINA E O $\beta$ -CAROTENO

#### RESUMEN

El objetivo fue evaluar los efectos de suplementar vitamina E o  $\beta$ -caroteno en el diámetro, volumen y área de vesículas uterinas de conejas evaluados mediante ultrasonografía. Conejas nulíparas ( $n=30$ ) se asignaron aleatoriamente a uno de tres tratamientos experimentales ( $n=10$ ): 1) sin suplemento o control; 2) con suplemento de vitamina E, inyectado subcutáneamente; y 3) con suplemento oral de  $\beta$ -caroteno. Los suplementos se administraron dos veces por semana antes de la inseminación artificial y durante la gestación. Las dosis fueron 50 ppm por kilogramo de alimento consumido promedio. Las evaluaciones de las vesículas se realizaron los días 7, 10, 14, 17 y 21 de gestación. El diseño experimental fue completamente al azar con 10 réplicas, la unidad experimental fue cada coneja. El análisis de varianza se realizó con un modelo mixto: tratamiento y días de gestación como efectos fijos, coneja como efecto aleatorio y el peso de la coneja a la inseminación artificial como covariable. Se detectó un efecto de tratamiento ( $p=0.03$ ) en el volumen y área de vesículas. Las conejas suplementadas con vitamina E o  $\beta$ -caroteno mostraron vesículas con volúmenes mayores que conejas control (+0.71 y 0.65 cm<sup>3</sup>), lo que equivale a 17.9 y 16.3% de incremento, respectivamente. Al suplementar con vitamina E o  $\beta$ -caroteno las conejas también mostraron áreas vesiculares mayores que las control (+0.29 y 0.25 cm<sup>2</sup>), representando 10.2 y 8.8% de incremento, respectivamente. El diámetro, volumen y área de vesículas uterinas fueron influenciados ( $p=0.0001$ ) por los días de gestación. Mejoras en las dimensiones vesiculares en conejas suplementadas fueron debidas a aumentos significativos en diámetro, volumen y área al día 21 de gestación más que los días previos de evaluación. Se concluye que la adición de vitamina E o  $\beta$ -caroteno mejora el desarrollo y crecimiento de vesículas uterinas en conejas nulíparas.

**Palabras clave:**  $\alpha$ -tocoferol, vitamina A, ultrasonografía, desarrollo blastocisto-fetal

---

Tesis de Maestría en Ciencias en Innovación Ganadera, Universidad Autónoma Chapingo  
Autor: Luis Miguel Hernández Velázquez  
Director de tesis: Ph.D Raymundo Rodríguez de Lara

## GROWTH OF UTERINE VESICLES IN NULLIPAROUS DOE RABBITS SUPPLEMENTED WITH VITAMIN E OR $\beta$ -CAROTEN

### ABSTRACT

The aim was to evaluate the effect of supplementation of vitamin E or  $\beta$ -carotene on diameter, volume and area of uterine vesicles of rabbits evaluated by ultrasonography. Pubertal nulliparous does (n=30) were assigned randomly to one of three experimental treatments (n=10): 1) without supplement or control; 2) with vitamin E supplement, subcutaneously injected; and 3) with  $\beta$ -carotene supplement orally administered. The supplements were given twice a week before artificial insemination and during gestation. Doses were 50 ppm per kilogram of average food consumption. The evaluations of uterine vesicles were carried out at days 7, 10, 14, 17 and 21 of gestation. The experimental design was completely randomized with 10 replicates; experimental unit was every doe. Analyses of variance were made under a mixed model: treatment and days of gestation were fixed, doe as random effect and doe weight at artificial insemination as covariate. It was detected an effect of treatment ( $p=0.03$ ) on volume and area of vesicles. The does supplemented with vitamin E or  $\beta$ -carotene showed vesicles with greater volumes than control does (+0.71 and 0.65 cm<sup>3</sup>), equivalent to 17.9 and 16.3% increment, respectively. Vitamin E and  $\beta$ -carotene supplement to does also showed greater vesicular areas than control does (+0.29 y 0.25 cm<sup>2</sup>), representing 10.2 and 8.8% increase, respectively. The diameter, volume and area of vesicles were influenced ( $p=0.0001$ ) by day of gestation. Overall, the improvement on dimensions of uterine vesicles in the present study was due to significant increments in diameter, volume and area at day 21 of gestation more than the previous days. It is concluded that the addition of vitamin E or  $\beta$ -carotene improve the development and growth of uterine vesicles in nulliparous doe rabbits.

**Keywords:**  $\alpha$ -tocopherol, vitamin A, ultrasonography, blastocyst-fetus development

---

Thesis, Universidad Autónoma Chapingo  
Author: Luis Miguel Hernández Velázquez  
Advisor: Ph.D. Raymundo Rodríguez de Lara

### 3.1 Introducción

Durante los procesos reproductivos de los animales se generan numerosos radicales libres que pueden dañar las células del aparato reproductor, incluidos los gametos y el embrión, provocando, entre otros, daño en la maduración del ovocito y en el desarrollo temprano del embrión, que derivan en problemas reproductivos. En condiciones normales, el organismo mantiene un equilibrio entre los radicales libres y los antioxidantes que previene la aparición de estos problemas (Quintela et al., 2008)

La vitamina E es un antioxidante que se encarga de proteger la membrana celular de los radicales libres (Niki, 1987). Estudios señalan que es necesario incluir la vitamina E, ya que las conejas pueden tener cantidades inapropiadas, provocando que la supervivencia embrionaria se vea comprometida (Salem & Gomaa, 2014). En conejas reproductoras, las recomendaciones prácticas para dietas con 88 a 90% de materia seca, son 50 mg/kg de vitamina E (Xiccato, 1996). Lebas (2000) recomienda incluir en la dieta 40 a 50 mg/kg.

El  $\beta$ -caroteno es un antioxidante que interviene en las funciones reproductivas de las conejas, al tener una relación muy estrecha con el colesterol en la síntesis de hormonas como FSH, LH y progesterona. Además que es el principal precursor de la vitamina A, la cual interviene en la diferenciación celular durante la embriogénesis (Gould, Itasaki, & Krumlauf, 1998; Sevgi, Kilicarlan, & Sabunco, 2002). Sin embargo, una deficiencia o una hipervitaminosis son capaces de comprometer el desarrollo embrionario. En conejos, el aporte de vitamina A ha mostrado ser eficiente con  $\beta$ -caroteno y los requerimientos de vitamina A se pueden lograr con 3000 UI/kg en la dieta (Lebas, 2000). Sin embargo, dada la sensibilidad a la oxidación de la vitamina A, las recomendaciones prácticas en alimentos comerciales son incluir de 6,000 a 10,000 UI/kg en dieta (Moghaddam, Cheeke, & Patton, 1996). La adición de  $\beta$ -

caroteno ha mostrado beneficios en el comportamiento reproductivo de las conejas (Castellini et al., 1992). Sin embargo, existe poca información cuando se suplementa con vitamina E o  $\beta$ -caroteno a conejas gestantes alimentadas con dietas comerciales, y su repercusión en el desarrollo y crecimiento vesicular uterino. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue examinar los efectos de la suplementación con vitamina E o  $\beta$ -caroteno sobre el diámetro, volumen y área de las vesículas uterinas evaluadas mediante ultrasonografía en conejas nulíparas.

### **3.2 Materiales y métodos**

El estudio se realizó en “Conejos” Centro de Investigación Científica de México A.C. (COCICEMAC), el cual se encuentra ubicado en San Miguel Coatlinchán, Texcoco, Estado de México, con coordenadas 19° 45´ N y 98° 87´ O y con 2137 msnm, temperatura media anual de 15.9 °C y precipitación de 645 mm (SMN, 2019). El experimento inició el 3 de agosto de 2019 y finalizó el 21 de septiembre de 2019.

#### **3.2.1 Animales, tratamientos y diseño experimental**

Treinta conejas puberales, producto del cruce de conejos California como raza paterna y Nueva Zelanda Blanco como materna, de 160 días de edad se asignaron aleatoriamente a uno de tres tratamientos experimentales (n=10), como sigue: T1) sin suplemento o control; T2) con suplemento de vitamina E (Tornel laboratorios®) inyectado subcutáneamente; T3) con suplemento de  $\beta$ -caroteno ( $\geq 93\%$  de pureza; Sigma-Aldrich®) administrada oralmente. Se ofrecieron 50 ppm de vitamina E o  $\beta$ -caroteno por kilogramo de alimento promedio consumido. El diseño experimental fue completamente al azar con 10 repeticiones por tratamiento, donde la unidad experimental fue cada coneja. La vitamina E y el  $\beta$ -caroteno fueron administrados dos veces por semana (martes y sábado); 12 días antes de la inseminación artificial (IA) y durante la gestación

dos veces por semana cada tercer y cuarto día. Antes de la IA, las conejas recibieron 90 ppm y un total de 231 ppm acumulados hasta los 21 días de gestación.

### **3.2.2 Medio ambiente e instalaciones**

Las conejas fueron alojadas en un galerón con aislamiento térmico y ventanas regulables tipo guillotina, se mantuvieron individualmente en jaulas metálicas galvanizadas tipo europea de 75 cm de largo x 55 cm de ancho x 30 cm de alto, dispuestas en un sistema *Flat-deck* o en línea. Las jaulas estuvieron provistas con bebederos automáticos tipo tetina y comederos de tolva tipo inglés. Las hembras recibieron sólo luz natural a lo largo del experimento.

### **3.2.3 Nutrición y alimentación**

Las conejas, antes de la primera inseminación artificial y durante la gestación, fueron alimentadas con un pienso comercial peletizado (Conejo Reproductor, Unión, Tepexpan®) con un contenido nutricional de 17.4% de proteína cruda, 5.3% de grasa, 15.0% de fibra cruda, 88% de materia seca, y 2608 kcal de energía digestible kg<sup>-1</sup>. El alimento balanceado fue provisto de minerales, oligoelementos, vitaminas del complejo B, vitaminas liposolubles incluyendo vitaminas A, D<sub>3</sub>, E y K<sub>3</sub>, absorbentes de micotoxinas, acidificantes, saborizantes naturales y antioxidantes. Hasta 12 días antes de la inseminación artificial se les ofreció 150 g por día y durante la gestación 220 g.

### **3.2.4 Procedimientos de administración para la vitamina E y el β-caroteno**

Doce días antes de la inseminación artificial y de acuerdo con el tratamiento (vitamina E o β-caroteno), las conejas se dosificaron con 50 ppm del micronutriente por 1000 g de alimento consumido en 4 ocasiones (cada tercer y cuarto día), por lo que, al ofrecerles 150 g de la dieta por día, el total administrado acumulado fue de 90 ppm de Vitamina E o de β-caroteno según correspondiera.



Para el caso de las conejas gestantes durante los 21 días de estudio y de acuerdo con el tratamiento (vitamina E o  $\beta$ -caroteno) recibieron la dosis de 50 ppm del micronutriente por 1000 g de alimento consumido en 7 ocasiones (cada tercer y cuarto día), como se proporcionó 220 g de la dieta diariamente, el total administrado acumulado fue de 231 ppm de vitamina E o  $\beta$ -caroteno, según el tratamiento que correspondiera.

La vitamina E suspendida en aceite de germen de trigo (20 ppm/mL; Tornel laboratorios®) fue inyectada subcutáneamente en la parte superior del lomo, utilizando una jeringa plástica de 3 mL. La administración del  $\beta$ -caroteno fue mediante la inserción dentro de la boca de unacápsula de grenetina con el precursor vitamínico, empleando una jeringa plástica modificada adaptada mientras las conejas eran sujetadas por el técnico en posición supina sobre la jaula.

### **3.2.5 Protocolo de inseminación artificial y manejo reproductivo**

La colección de semen se realizó utilizando una vagina artificial adaptada para conejos de acuerdo con el método de Walton (1958). Se colectaron los primeros y segundos eyaculados de 9 machos provenientes del cruce de conejos machos California y hembras Nueva Zelanda Blanco. Las muestras de semen se mantuvieron en baño María a 32 °C. Se seleccionaron los eyaculados, de diferentes machos, con las mejores apariencias cremosas o cremosas-lechosas, y motilidades por arriba del 75%, mezclándose en un diluyente gelificado (Cunigel; IMV Technologies ®). Se utilizó bioestímulo para sincronización de estros, mediante cambio de lugar y jaula 15 horas antes de la inseminación artificial. Las conejas fueron sujetadas individualmente en posición supina e inseminadas utilizando 0.8 mL de semen fresco heterospermático diluido. Inmediatamente después de la IA, las conejas fueron inducidas a la ovulación, administrando 20  $\mu$ g de gonadorelina i.m. (GNRH de Sanfer®) en el músculo bíceps femoral.

Las mediciones se realizaron con un equipo de ultrasonido de tiempo real (UTR), modo-B marca DP-10 Vet (Mindray Company) equipado con un transductor convexo de 5 Mhz y provisto con un Software especializado para el congelamiento de imágenes, lo que facilitó las mediciones de las dimensiones de las vesículas uterinas. El técnico operador del equipo fue capacitado por personal altamente calificado por un período de tres meses antes de iniciar la presente investigación, para garantizar habilidad y competencia. Las mediciones y evaluaciones de las vesículas uterinas se realizaron a los 7, 10, 14, 17 y 21 días después de la gestación, a partir de las 8:00 AM, cuando las conejas se encontraban en ayunas. Los animales fueron rasurados, un día antes de la evaluación programada, con una máquina eléctrica automática para mascotas (Modelo: HC114RWES; CONAIR ®). El rasurado se realizó en la zona ventral baja a partir del penúltimo par de pezones. Para proceder en la evaluación ecográfica a los diferentes días de gestación, el rasurado y las mediciones fueron realizados siempre por el mismo técnico.



Figura 1. Sujeción de la coneja para realizar la ultrasonografía.

El operador sentado en un banquillo sujetaba a la coneja en posición supina colocando la cabeza y las extremidades delanteras entre el costado y brazo izquierdo del operador, lo que permitía que ambas manos quedaran libres. Con la mano izquierda se sujetaban las extremidades traseras para evitar el movimiento y con la mano derecha se rasuraba nuevamente a la coneja y se manipulaba el transductor. Las conejas usualmente permanecieron relajadas durante las evaluaciones. El examen de ultrasonografía se realizó trans-abdominalmente, después de aplicar el gel base agua (ULTRASON®) en la superficie de la piel depilada. El transductor se colocó externa y directamente en frente del hueso púbico posicionándolo en un plano sagital, y deslizándolo en dirección caudo-craneal para evaluar ambos cuernos uterinos.

### 3.2.6 Variables de respuesta

Las variables de respuesta fueron diámetro (cm), volumen (cm<sup>3</sup>) y área (cm<sup>2</sup>) de las vesículas uterinas. El volumen de la vesícula fue el equivalente a cuatro tercias de su radio a la tercera potencia multiplicada por 3.141592 ( $V=4/3\pi R^3$ ) y el área como la medida del tamaño de la región superficial expresada en unidades que son cuadradas ( $A=4\pi R^2$ ). Las dimensiones de las vesículas uterinas fueron determinadas los días 7, 10, 14, 17 y 21 de gestación; se contaron y midieron el mayor número posible de vesículas uterinas.

### 3.2.7 Análisis estadístico

Las dimensiones de las vesículas uterinas evaluadas se sometieron a un análisis de varianza considerando el siguiente modelo mixto lineal:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + D_j + M_k + (T * D)_{ij} + b_1(X_{ijk} - \bar{X}) + \varepsilon_{ijk}$$

donde  $Y_{ijk}$ , es la variable respuesta;  $\mu$ , es la media general;  $T_i$ , es el efecto fijo de la  $i$ -ésimo tratamiento ( $i$  = sin suplemento, vitamina E,  $\beta$ -caroteno);  $D_j$ , es el efecto

fijo del  $j$ -ésimo día de gestación ( $j = 7, 10, 14, 17, 21$ );  $M_k$ , es el efecto aleatorio de la  $k$ -ésima coneja ( $k=1, \dots, 30$ )  $\sim NI(0, \sigma_m^2)$ ;  $(T*D)_{ij}$  es la interacción entre tratamiento y días de gestación;  $b_1$  es el coeficiente de regresión lineal de la covariable peso de la coneja al momento de la inseminación artificial; y  $\epsilon_{ijk}$ , es el residual  $\sim NI(0, \sigma_e^2)$ .

Las covariables que no tuvieron un efecto significativo ( $p > 0.05$ ) para cualquiera de las variables de respuesta, fueron eliminadas del modelo final. Las variables se analizaron mediante cuadrados mínimos utilizando el procedimiento MIXED de SAS (SAS, 2016). La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey. Las ecuaciones de regresión para predecir el crecimiento de vesículas uterinas durante la gestación se calcularon con el procedimiento REG de SAS. Se trazaron gráficas.

### 3.3 Resultados y discusión

Se generaron y analizaron un total de 617 registros. En el Cuadro 1 se presentan los estadísticos descriptivos del peso de las conejas al momento de la inseminación artificial, y el número, el diámetro, el volumen y el área de vesículas uterinas.

Cuadro 1. Estadísticos descriptivos y coeficientes de variación para peso de las hembras y dimensiones de vesículas uterinas en conejas nulíparas.

Variable	Media	DE	Mínimo	Máximo	CV
Peso (g)	3958.7	334.5	3415	4970	8.4
Número	2.8	1.4	1	7	50.7
Diámetro (mm)	20.0	0.9	4.0	39.0	42.9
Volumen (cm <sup>3</sup> )	4.9	4.3	0.04	16.9	86.8
Área (cm <sup>2</sup> )	3.3	2.2	0.2	8.6	67.6

Las conejas fueron monitoreadas con precisión mediante un calibrador integrado al equipo de ultrasonografía. Las vesículas uterinas se observaron como cavidades oscuras esféricas anecoicas, similares a sacos ovales o áreas de alta ecogenicidad (Idris et al., 2016; Inaba, Mori, & Tori, 1986; Ypsilantis & Saratsis, 1999). En conejas no se encontraron reportes sobre el volumen y el área, y existe poca información sobre el diámetro de las vesículas uterinas a diferentes días de gestación; el diámetro promedio al día 7 de gestación fue 0.75 cm, lo que es superior al rango (0.45 - 0.59 cm) reportado para conejos Nueva Zelanda Blanco (Daniel, 1964), pero coinciden con el rango (0.5 - 0.9 cm) reportado en conejas nulíparas para la misma raza (Nishimura, 2001). Schencke, Rojas, y del Sol, (2008) observaron diámetros al día 7 y 10 de gestación, obteniendo valores de 0.62 y 1.42 cm, respectivamente. El diámetro promedio al día 10 de gestación (1.3 cm) se ajusta al rango (1.0 a 2.0 cm) observado por Ypsilantis y Saratsis (1999), y al valor al día 17 (2.4 cm) es similar (2.1 cm) al reportado por Bailey y Miller (1921). Las inconsistencias entre estudios en las dimensiones de las vesículas uterinas para diferentes días de gestación, pudieran ser atribuidas a diferencias en la edad de las conejas, la paridad, la nutrición materna, la condición corporal, el medio ambiente, las condiciones experimentales, la alimentación, el manejo reproductivo y el genotipo.

En el Cuadro 2 se presentan las medias de cuadrados mínimos para las dimensiones de vesículas uterinas, en relación con el tratamiento y los días de gestación. La covariable peso de la coneja a la inseminación artificial fue significativa para el diámetro ( $p=0.01$ ) y el área ( $p=0.03$ ), por lo que estas variables se ajustaron a un peso estándar de 3963 g.

Los diámetros de las vesículas uterinas de conejas tratadas con vitamina E o  $\beta$ -caroteno tendieron ( $p=0.109$ ) a ser mayores en 0.8 y 0.7 mm que las de control, lo que corresponde a incrementos del 4.1 y 3.9%, respectivamente. Se encontró un efecto ( $p=0.03$ ) de tratamiento en volumen y área de vesículas. Las conejas

suplementadas con vitamina E o  $\beta$ -caroteno mostraron vesículas más voluminosas en 0.71 y 0.65 cm<sup>3</sup> comparadas con conejas control, representando incrementos del 17.9 y 16.3%, respectivamente. También las áreas vesiculares de las conejas suministradas con vitamina E o  $\beta$ -caroteno fueron superiores en 0.29 y 0.25 cm<sup>2</sup> que aquellas del tratamiento control, lo que corresponde a aumentos del 10.2 y 8.8%, respectivamente. Adicionalmente, se han reportado mejoras en el desarrollo y crecimiento embrionario al suplementar vitamina E en ratas (Romero et al., 2012).

Cuadro 2. Medias de cuadrados mínimos ( $\pm$  error estándar) para los efectos de tratamiento y días de gestación en dimensiones de vesículas uterinas en conejas nulíparas.

Factor	N	Diámetro (mm)	Volumen (cm <sup>3</sup> )	Área (cm <sup>2</sup> )
<b>Tratamiento<sup>z</sup></b>				
Control	206	18.75 $\pm$ 0.28	3.97 $\pm$ 0.18 <sub>b</sub>	2.85 $\pm$ 0.08 <sub>b</sub>
Vitamina E	190	19.52 $\pm$ 0.28	4.68 $\pm$ 0.20 <sub>a</sub>	3.10 $\pm$ 0.08 <sub>a</sub>
$\beta$ -caroteno	221	19.48 $\pm$ 0.28	4.62 $\pm$ 0.18 <sub>a</sub>	3.14 $\pm$ 0.08 <sub>a</sub>
<b>Días de gestación<sup>z</sup></b>				
7	99	7.49 $\pm$ 0.27 <sub>a</sub>	0.08 $\pm$ 0.18 <sub>a</sub>	0.36 $\pm$ 0.07 <sub>a</sub>
10	112	13.03 $\pm$ 0.24 <sub>b</sub>	1.17 $\pm$ 0.17 <sub>b</sub>	1.34 $\pm$ 0.07 <sub>b</sub>
14	124	19.83 $\pm$ 0.22 <sub>c</sub>	3.38 $\pm$ 0.16 <sub>c</sub>	2.82 $\pm$ 0.07 <sub>c</sub>
17	138	24.53 $\pm$ 0.22 <sub>d</sub>	6.67 $\pm$ 0.16 <sub>d</sub>	4.36 $\pm$ 0.07 <sub>d</sub>
21	144	31.37 $\pm$ 0.22 <sub>e</sub>	10.81 $\pm$ 0.16 <sub>e</sub>	6.26 $\pm$ 0.06 <sub>e</sub>

<sup>z</sup> Medias en la misma columna con al menos una letra en común no son diferentes ( $p > 0.05$ ).

El diámetro, volumen y área de vesículas uterinas fueron influenciados ( $p=0.0001$ ) por días de gestación. Diferencias significativas entre días 7, 10, 14 y 21 para estas características siempre estuvieron presentes. Los incrementos diarios en diámetro entre los días 7-10, 10-14, 14-17 y 17-21 fueron 1.8, 1.7, 1.6 y 1.7 mm, respectivamente, siendo 1.7 mm el promedio entre los días 7 y 21. Para los mismos intervalos de tiempo, los incrementos diarios en volumen y área

fueron 0.4, 0.6, 1.1, 1,0 cm<sup>3</sup> y 0.3, 0.4, 0.5, 0.5 cm<sup>2</sup>, respectivamente, siendo los incrementos promedios por día (7-21) para volumen de 0.8 cm<sup>3</sup> y para área de 0.4 cm<sup>2</sup>. Schencke et al. (2008) reportaron en conejas diseccionadas, un incremento diario en diámetro de las vesículas uterinas de 2.7 mm, entre los días 7 y 14 de gestación.

El diámetro, el volumen y el área fueron influenciados ( $p=0.0001$ ) por la interacción entre tratamiento y días de gestación (Cuadro 3). El desarrollo de vesículas uterinas entre tratamientos para los días 7, 10, 14 y 17 de gestación no fueron diferentes ( $p>0.05$ ). Sin embargo, al día 21 los diámetros, volúmenes y áreas fueron muy superiores en las conejas suplementadas con vitamina E o  $\beta$ -caroteno con respecto a las conejas en control. Para el día 21, los diámetros de las conejas suplementadas con vitamina E o  $\beta$ -caroteno aumentaron 2.79 y 3.11 mm (+ 9.5 y 10.6%) con respecto a los de las conejas control. Asimismo, los volúmenes a los 21 días en las primeras fueron superiores en 36.3 y 34.0%, comparados con los testigos equivalentes a 3.11 y 3.18 cm<sup>3</sup> de aumento. Las áreas vesiculares en las conejas con vitamina E o  $\beta$ -caroteno para ese mismo día fueron mayores en 1.29 y 1.26 cm<sup>2</sup> (+ 23.8 y 23.3%) comparadas con aquellas de conejas en control. Estos resultados demuestran que las mejoras observadas en las dimensiones vesiculares en conejas suplementadas fueron debidas a aumentos significativos en el diámetro, el volumen y el área al día 21 de gestación más que a los días previos de evaluación, lo que sugiere que la administración de vitamina E o  $\beta$ -caroteno se ve reflejada a partir de los 21 días.

En el presente estudio no se determinaron las concentraciones y estabilidad de las vitaminas E o A en el alimento. Sin embargo, e independientemente del contenido de estos micronutrientes en la dieta, se observaron mejoras en el desarrollo y crecimiento de vesículas uterinas tanto al suplementar con vitamina E como con  $\beta$ -caroteno. Tanto el  $\beta$ -caroteno, precursor de la vitamina A, como la vitamina E son esenciales, puesto que intervienen en la formación y protección

de los tejidos epiteliales y membranas de la célula, dicha actividad tiene especial importancia durante el crecimiento, la reproducción y la respuesta inmune (McDonald et al., 2002). Cabe destacar, que su acción como antioxidantes es la responsable de la mayor parte de sus efectos en el organismo (Arias Quintela, Becerra, Díaz, & Herradón, 2008), y ya sea una deficiencia o una sobre dosis de algunas de ellas, es capaz de comprometer el desarrollo embrionario (Gould et al., 1998; Sevgi et al., 2002).

La vitamina E constituye un lípido soluble de origen dietético con propiedades antioxidantes que proporciona protección a la unidad materno-fetal, mejorando así el crecimiento intrauterino y los pesos de las crías al nacimiento (Salem, Hussein, Gomaa, & Allam, 2018). La vitamina E es absorbida junto con los lípidos en la parte proximal del intestino y se liberan en la linfa para ser transportados a las células por los quilomicrones. Las lipasas los hidrolizan una parte de los tocoferoles transportados y se libera de los quilomicrones a los tejidos periféricos; los quilomicrones remanentes llevan la vitamina E restante hacia el hígado, ahí se incorpora en las lipoproteínas de baja densidad para redistribuirse a los tejidos periféricos (Blé-Castillo et al., 2008). La perfusión de la vitamina E en los órganos y células es a través de los quilomicrones que se encargan de trasportarla en el torrente sanguíneo, de esta manera el feto recibe vitamina E a través de la placenta que esta irrigada por la arteria uterina y se ha encontrado que los quilomicrones de muy baja y alta densidad son los que interactúan de manera principal (Futia & Acuff, 1996).



Cuadro 3. Medias de cuadrados mínimos ( $\pm$  error estándar) para los efectos de interacción entre tratamiento y días de gestación en las dimensiones de vesículas uterinas en conejas nulíparas.

	Días	N	Diámetro (mm)	Volumen (cm <sup>3</sup> )	Área (cm <sup>2</sup> )
Control	7	34	7.75 $\pm$ 0.44	0.12 $\pm$ 0.31	0.42 $\pm$ 0.13
Vitamina E	7	22	7.70 $\pm$ 0.50	0.03 $\pm$ 0.36	0.32 $\pm$ 0.15
$\beta$ -caroteno	7	43	7.01 $\pm$ 0.40	0.08 $\pm$ 0.28	0.35 $\pm$ 0.12
Control	10	38	12.32 $\pm$ 0.40	1.03 $\pm$ 0.29	1.24 $\pm$ 0.11
Vitamina E	10	34	13.24 $\pm$ 0.41	1.40 $\pm$ 0.30	1.42 $\pm$ 0.12
$\beta$ -caroteno	10	40	13.55 $\pm$ 0.40	1.08 $\pm$ 0.29	1.37 $\pm$ 0.12
Control	14	42	19.70 $\pm$ 0.38	3.42 $\pm$ 0.28	2.85 $\pm$ 0.11
Vitamina E	14	39	19.58 $\pm$ 0.40	3.16 $\pm$ 0.29	2.68 $\pm$ 0.12
$\beta$ -caroteno	14	43	20.21 $\pm$ 0.38	3.57 $\pm$ 0.28	2.92 $\pm$ 0.11
Control	17	43	24.60 $\pm$ 0.38	6.53 $\pm$ 0.28	4.32 $\pm$ 0.11
Vitamina E	17	46	24.88 $\pm$ 0.38	6.86 $\pm$ 0.27	4.36 $\pm$ 0.11
$\beta$ -caroteno	17	49	24.12 $\pm$ 0.37	6.63 $\pm$ 0.27	4.41 $\pm$ 0.11
Control	21	49	29.40 $\pm$ 0.37 <sub>b</sub>	8.75 $\pm$ 0.27 <sub>b</sub>	5.41 $\pm$ 0.11 <sub>b</sub>
Vitamina E	21	49	32.19 $\pm$ 0.38 <sub>a</sub>	11.93 $\pm$ 0.27 <sub>a</sub>	6.70 $\pm$ 0.11 <sub>a</sub>
$\beta$ -caroteno	21	46	32.51 $\pm$ 0.37 <sub>a</sub>	11.76 $\pm$ 0.27 <sub>a</sub>	6.67 $\pm$ 0.11 <sub>a</sub>

<sup>abc</sup> Letras diferentes en el superíndice de la misma columna indican que son diferentes ( $p < 0.05$ ).

Las mejoras en las dimensiones de las vesículas uterinas al suplementar vitamina E pudieran estar relacionadas con mecanismos benéficos en el metabolismo celular, particularmente en la protección de especies reactivas de oxígeno, y a mejoras en la dinámica flujo-sanguínea materno-fetal y en el abastecimiento de nutrientes al feto, pero esto no ha sido probado. Algunos

estudios han encontrado que, al hacer uso de los lípidos (ácidos grasos insaturados), las células producen una peroxidación en donde las moléculas de estos ácidos pierden un electrón, generándose así moléculas altamente reactivas (radicales libres), específicamente lipoperoxi y aldehídos citotóxicos, capaces de dañar la capa fosfolipídica de la membrana celular e incluso destruirla (Niki, 1987) y ocasionar daños colaterales a las células vecinas, repercutiendo en la integridad de las proteínas de la membrana plasmática e inactivando enzimas y receptores, además de alterar la estructura del ADN y la división celular (Guérin, El Mouatassim, & Ménézo, 2001; Korc, Bidegain, & Martell, 1995). La vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol) gracias a su anillo cromado reacciona con los radicales libres generando hidroperóxidos lipídicos relativamente estables (Febles et al., 2002). Estudios sobre los efectos de los radicales libres en embriones antes de la implantación indican que las demandas de oxígeno (metabolismo molecular de oxígeno) son grandes para su desarrollo normal e implantación, de tal forma que se producen tres formas oxidativas hidroxilo (OH), peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ) y el anión superóxido ( $O_2^-$ ) (Guérin et al., 2001). En bovinos se ha demostrado que la producción excesiva de radicales libres genera un estrés oxidativo que compromete la cantidad de vitamina E antes del parto (Weiss, Hogan, Todhunter, & Smith, 1997).

En este estudio, al suplementar con vitamina E, suspendida en aceite de germen de trigo e inyectada subcutáneamente, posiblemente haya favorecido a las vesículas uterinas a lo largo de la gestación en un mayor grado la protección del estrés oxidativo, favoreciendo así su desarrollo y crecimiento. Es probable que su efecto antioxidativo pudiera incluso haber estado actuando favorablemente desde antes de la inseminación artificial, protegiendo la integridad de las membranas plasmáticas de los folículos y óvulos. La vitamina E en ovejas ha mostrado jugar un papel importante en el control del estrés oxidativo, favoreciendo el desarrollo folicular y la actividad ovárica (Liu, Masters, Ferguson, & Thompson, 2014).

Además, los aumentos notables en las dimensiones de las vesículas uterinas a los 21 días al suplementar vitamina E, pueden estar relacionados con mejoras en el flujo sanguíneo y en el abastecimiento de nutrientes entre la placenta y el feto. El Institute of Medicine (2000) sugiere que tanto  $\alpha$ -tocoferol como  $\gamma$ -tocoferol pudieran estar involucrados en el crecimiento fetal, al incrementarse los flujos sanguíneos. De acuerdo con esta fuente, la vitamina E mejora la liberación de prostaciclina, metabolito del ácido araquidónico que incrementa la vasodilatación arterial materno-placentaria. La vasodilatación ha mostrado aumentar los flujos sanguíneos entre placenta y feto, y dentro de la misma circulación fetal (De Jong et al., 2000; Klockenbusch et al., 2000; Wang, Walsh, Guo, & Zhang, 1991), mejorando así el abastecimiento de nutrientes (Scholl, Chen, Sims, & Stein, 2006). Por lo anterior, es probable que la suplementación de  $\alpha$ -tocoferol, al protocolo y dosis probados, haya permitido alcanzar niveles adecuados de vitamina E materno-placentarios séricos y tisulares. Esto puede haber favorecido el traspaso transplacentario de  $\alpha$ -tocoferol a los fetos. Niveles bajos de  $\alpha$ -tocoferol han mostrado comprometer el abastecimiento de nutrientes al feto e interfieren en su crecimiento (Institute of Medicine, 2000). Por lo que, las mejoras en el desarrollo y crecimiento de las vesículas uterinas en conejas al suplementar vitamina E se pueden deber a los mecanismos antioxidativos y a los mecanismos relacionados con los aumentos en los flujos sanguíneos.

En este estudio se administró  $\beta$ -caroteno de alta pureza ( $\geq 93\%$ ), mediante cápsulas de gretina directamente dentro de la cavidad bucal. Este procedimiento garantizó la ingestión precisa del precursor de vitamina A carotenoide. Esta estrategia de dosis y suplementación mostró mejorar las dimensiones de las vesículas uterinas. Los efectos benéficos del  $\beta$ -caroteno son intrigantes, pero se requieren de estudios más profundos para elucidar los posibles mecanismos de acción moleculares que influyeron en los procesos de síntesis de vitamina A en la mucosa intestinal, su absorción, biodisponibilidad, almacenamiento, y su transporte como retinol hasta los tejidos de los embriones

y fetos. Al alimentar conejas reproductoras con 18 000 UI de vitamina A/kg en la dieta, Castellini et al. (1992) encontraron que la suplementación de 59 mg/kg vs 27 mg/kg de  $\beta$ -caroteno mejoró la fertilidad en 6.7% y obtuvieron 1.2 más gazapos nacidos. Besenfelder, Solti, Seregi, Muller, y Brem (1996) al estudiar las funciones relativas de vitamina A y  $\beta$ -caroteno en la fisiología reproductiva de las conejas, no observaron ningún efecto al suplementar 40 ppm de  $\beta$ -caroteno y concluyeron que los efectos observados fueron estrictamente relacionados al metabolismo de la vitamina A.

La vitamina A constituye un micronutriente esencial para el desarrollo embrionario normal (Gutierrez-Mazariegos, Theodosiou, Campo-Paysaa, & Schubert, 2011) y su precursor  $\beta$ -caroteno, en mamíferos, promueve el desarrollo embrionario al actuar como una fuente de retinoides para los tejidos en desarrollo (Spiegler, Kim, Wassef, Shete, & Quadro, 2012). Wassef, Shete, Hong, Spiegler, y Quadro (2012) sostienen que los retinoides son importantes para la salud materna, ya que son indispensables para el mantenimiento de la placenta y esenciales para el desarrollo embrionario.

Es probable que la suplementación con  $\beta$ -caroteno con la dosis y la forma de administración empleada, en el presente estudio, pudiera haber contribuido en la protección de las vesículas uterinas del estrés oxidativo durante la gestación de las conejas. La producción de especies reactivas de oxígeno han demostrado causar daños estructurales y funcionales en las células y tejidos, actuar como agentes pro-inflamatorios que resultan en complicaciones y anormalidades durante la preñez (Agarwal, Aponte-mellado, Premkumar, Shaman, & Gupta, 2012), y de ocasionar restricciones en el crecimiento intrauterino (Webster, Roberts, & Myatt, 2008). Estudios en medios de cultivo han probado que los radicales libres y las especies reactivas de oxígeno afectan negativamente el desarrollo y crecimiento embrionario, al disminuir la tasa de desarrollo de los blastocistos e incrementar la fragmentación y apoptosis (Agarwal et al., 2012).

Estudios en humanos han encontrado que la principal provitamina A carotenoide es el  $\beta$ -caroteno, el cual al llegar al intestino es absorbido dentro de las micelas y que su solubilidad, segmentación y absorción intestinal dependen de la acción de las sales biliares pancreáticas y de los tamaños de las micelas intestinales (Erdman, Bierer, & Gugger, 1993). En el caso de la presente investigación, la rapidez de absorción en su forma pura y biodisponibilidad es incierta y requiere ser investigada, sobre todo para determinar las concentraciones de retinol alcanzadas o bioeficiencia a nivel de los fetos ante esta estrategia de administración. Estudios en humanos han demostrado que el  $\beta$ -caroteno como molécula lipofílica se absorbe más rápida y eficientemente cuando es proporcionado en aceite (Grune et al., 2010). Estos autores sostienen que la facilidad y rapidez de absorción de  $\beta$ -caroteno se ve influenciada por el contenido de lípidos en la dieta y que su absorción se ve más favorecida cuando provienen de frutas que de vegetales, pero generalmente su biodisponibilidad en aceite es mayor.

El primer paso para la conversión de  $\beta$ -caroteno a vitamina A dentro de los enterocitos, es su segmentación simétrica mediante la acción de la enzima  $\beta$ -caroteno 15-15'-monooxigenasa (CMOI), generando dos moléculas de retinaldehído (von Lintig, Kiser, Golczak, & Palczewski, 2010). Asimismo, la enzima  $\beta$ -caroteno 9',10'-monooxigenasa (CMOII) segmenta  $\beta$ -caroteno asimétricamente para formar apocarotenales, los cuales producen una molécula de retinaldehído por el acortamiento de la cadena (Kiefer et al., 2001; Wang et al., 1996). Ambas enzimas se expresan en el intestino (Lindqvist, He, & Andersson, 2005), la contribución de la segmentación enzimática asimétrica es menor comparada al papel de CMOI en la generación de vitamina A de sus precursores carotenoides (Hickenbottom et al., 2002; von Lintig et al., 2010). Dentro de los enterocitos, retinol deshidrogenasa convierte retinaldehído en retinol, el cual es convertido en ésteres de retinol por la enzima lecitina retinol aciltransferasa (Vogel et al., 2002). Sin embargo, estudios en humanos han

encontrado que del 25 al 45% de  $\beta$ -caroteno en la dieta no se desdobra en el intestino, parte entra a la circulación intacto (Hickenbottom et al., 2002; von Lintig et al., 2010) y que la biodisponibilidad depende de la especie de carotenoides (siendo favorecidos los isómeros, todos-trans), la dosis, la forma de incorporación en el alimento, el estatus nutricional del que recibe (incluyendo el consumo dietético de grasa, fibra, vitamina A y otros carotenoides), el género (favoreciendo a las hembras), el índice de masa corporal y la integridad intestinal (Grune et al., 2010). Además, se ha encontrado que la eficiencia de segmentación del  $\beta$ -caroteno en el intestino varía grandemente entre especies, al encontrarse que pre-ruminantes becerros, hurones, gerbos y algunos no humanos primates son muy similares a los humanos en su habilidad para absorber y metabolizar el  $\beta$ -caroteno comparado con ratonas y ratas, los cuales segmentan casi todo el  $\beta$ -caroteno en el intestino más que absorberlo en forma intacta (Lee et al., 1999).

Los carotenoides se absorben directamente, mucho más lento después de que en el intestino se segmentan, producen retinal y de ahí retinol que es la forma en que se absorbe (Hernández, 2005). Una vez absorbido el retinol, se vuelve a unir a un ácido graso, formando nuevamente ésteres de retinilo que junto con otros lípidos se incorporan en quilomicrones. Estos ésteres empacados en quilomicrones son secretados dentro de los ductos linfáticos antes de alcanzar la circulación sistémica (Vogel et al., 2002). Los quilomicrones pasan a la linfa dirigiéndose a los tejidos de almacenamiento, principalmente al hígado (Hernández, 2005), y cuando otros tejidos requieren esta vitamina los retinoides pasan a la circulación sistémica mediante una proteína de unión al retinol (proteína unidora de retinol). Al llegar al tejido embrionario, por actividad oxidativa, los retinoides generan ácido retinoico el cual tiene una gran influencia en la diferenciación de varios órganos, como la parte posterior del cerebro, la médula espinal, el corazón, riñón y ojos (Clagett-Dame & Knutson, 2011; Gould et al., 1998; Sockanathan & Jessell, 1998). Deficiencias o excesos de vitamina

A han mostrado alterar abruptamente las funciones antes mencionadas causando malformaciones (De Blas & Nicodemus, 2001); sin embargo, la mucosa intestinal hace uso del  $\beta$ -caroteno para producir la vitamina A suficiente en el organismo. De cualquier forma, la función biológica principal del  $\beta$ -caroteno en los mamíferos es como provitamina y su conversión está regulada por los niveles de vitamina A en el organismo (Carranco Jáuregui, Calvo carrillo, & Pérez-Gil Romo, 2011; McDonald et al., 2002; Meléndez-Martínez, Vicario, & Heredia, 2007).

En conejas, Bautista et al. (2015) encontraron que a los 20 días de gestación ocurren aumentos importantes en el flujo sanguíneo en la arteria umbilical para satisfacer los incrementos en las necesidades de perfusión adecuadas de los fetos, lo que posiblemente pudiera permitir transportar más eficientemente las vitaminas E y A, favoreciendo así el desarrollo y crecimiento vesicular uterino. Por lo anterior, ambas vitaminas pudieran estar involucradas en el crecimiento fetal al incrementar el flujo sanguíneo a los fetos y mejorar el abastecimiento de nutrientes.

Los patrones de la relación lineal y exponencial ( $p < 0.001$ ) entre días de gestación con el diámetro, el volumen y el área de las vesículas uterinas son mostradas en las Figuras 1 a 3. Las regresiones lineales ajustaron ( $p < 0.001$ ) la relación de días de gestación con el diámetro y el área vesicular. El comportamiento general de estas variables dependientes fue que conforme los días de gestación avanzaron las dimensiones de las vesículas aumentaron. Estos resultados son similares a los reportados por Chavatte-Palmer et al. (2008), quienes describieron que el diámetro de las vesículas uterinas aumentaba conforme aumentaba la edad de la gestación (de 7 a 19 días) expresada por una relación lineal  $y = 0.3952x + 4.8597$ , donde  $y$  es la edad gestacional en días y  $x$  es el diámetro de las vesículas embrionarias. El volumen de vesículas se ajustó mejor ( $p < 0.001$ ) a una regresión exponencial.

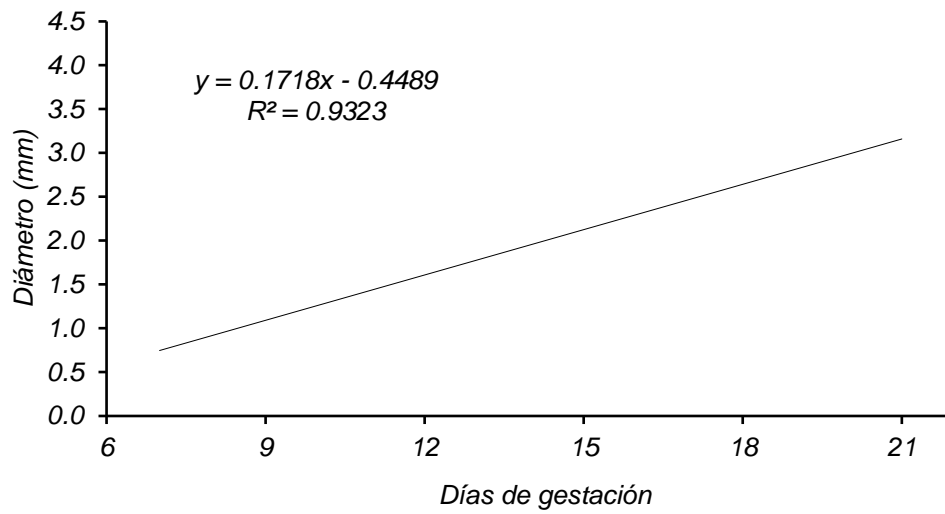


Figura 2. Relación entre días de gestación y diámetro de vesículas uterinas en conejas nulíparas.

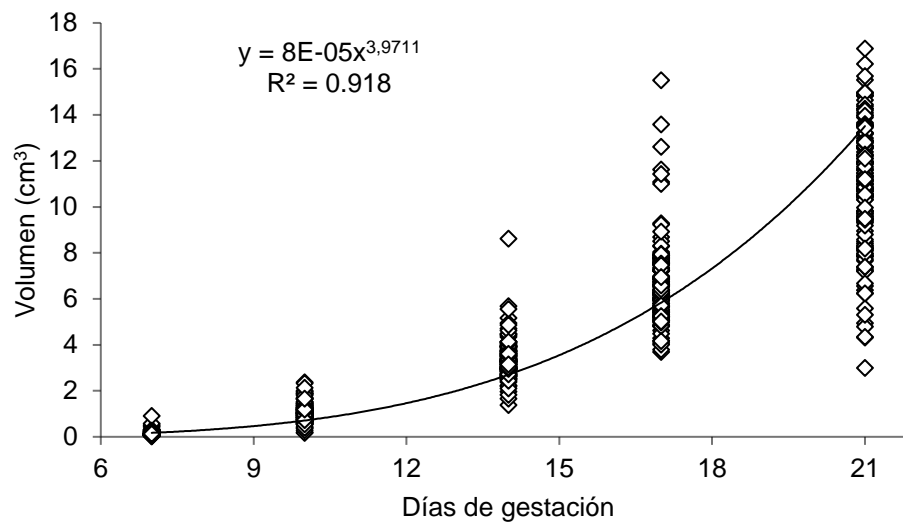


Figura 3. Relación entre días de gestación y volumen de las vesículas uterinas en conejas nulíparas.



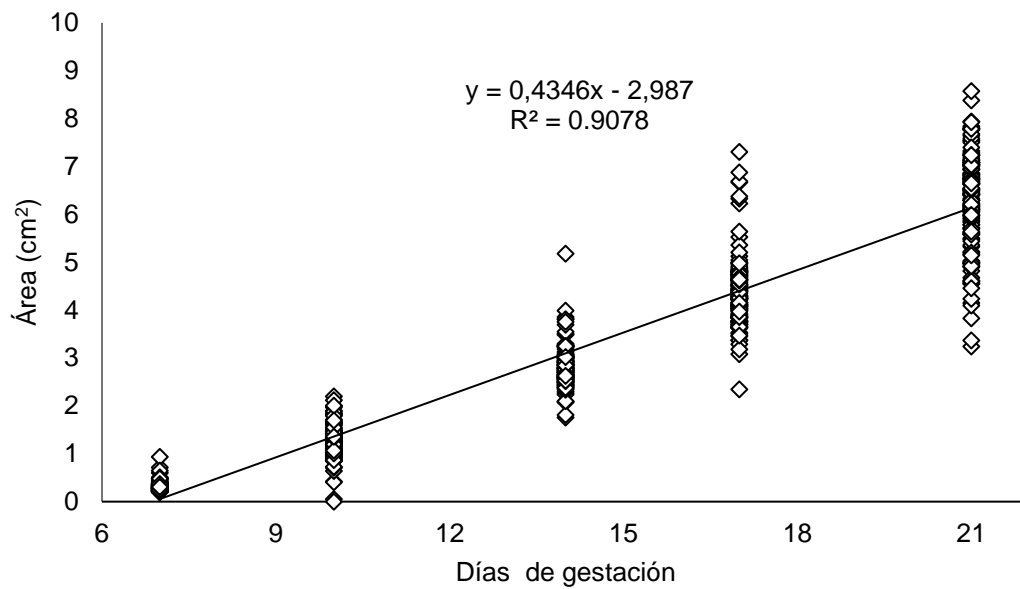


Figura 4. Relación entre días de gestación y área de las vesículas uterinas en conejas nulíparas.

### 3.4 Conclusiones

La vitamina E y el  $\beta$ -caroteno favorecen las dimensiones de las vesículas uterinas en conejas y su expresión es mayor en el día 21 de gestación. Se requieren de más estudios, a largo plazo, sobre los efectos de suplementación de estas vitaminas en el desarrollo y crecimiento vesicular uterino, en la fertilidad, prolificidad y peso de las camadas al nacimiento, incluyendo las respuestas tanto en conejas nulíparas como multíparas. Es posible predecir el crecimiento de las vesículas uterinas en conejas nulíparas, de acuerdo con el día de gestación.

### 3.5 Literatura citada

- Agarwal, A., Aponte-Mellado, A., Premkumar, B. J., Shaman, A., & Gupta, S. (2012). The effects of oxidative stress on female reproduction: A review. *Reproductive Biology and Endocrinology*, *10*(49), 1–31.
- Bailey, F. R., & Miller, M. N. (1921). *Libro de Texto de Ebrilogia* (William Wo). Nueva York, USA.
- Bautista, A., Rödel, H. G., Monclús, R., Juárez-Romero, M., Cruz-Sánchez, E., Martínez-Gómez, M., & Hudson, R. (2015). Intrauterine position as a predictor of postnatal growth and survival in the rabbit. *Physiology and Behavior*, *138*, 101–106. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.10.028>
- Besenfelder, U., Solti, L., Seregi, J., Muller, M., & Brem, G. (1996). Roles for beta-carotene and vitamin A in the reproduction on rabbits. *Therionology*, *45*, 1583–10591.
- Blé-Castillo, J. L., Díaz-Zagoya, J. C., & Méndez, J. D. (2008). Suplementación con vitamina E, ¿benéfica o dañina? *Gaceta Médica de México*, *144*(2), 147–154.
- Carranco, E. M., Calvo, C., & Pérez-Gil Romo, F. (2011). Carotenoides y su función antioxidante: revisión. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, *61*(3).
- Castellini, C., Lattaioli, P., & Setta, B. (1992). The effect of beta-carotene on the productive performance of brood-doe rabbits and bunnies. *Rivista Di Coniglicoltura*.
- Chavatte-Palmer, P., Laigre, P., Simonoff, E., Chesné, P., Challah-Jacques, M., & Renard, J. (2008). In utero characterisation of fetal growth by ultrasound scanning in the rabbit. *Theriogenology*, *69*, 859–869. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.12.013>
- Clagett-Dame, M., & Knutson, D. (2011). Vitamin a in reproduction and development. *Nutrients*, *3*(4), 385–428. <https://doi.org/10.3390/nu3040385>
- Daniel, J. (1964). Early growth of rabbit trophoblast. *The American Naturalist*, *98*, 85–98.
- De Blas, C., & Nicodemus, N. (2001). Interacción nutrición-reproducción en conejas reproductoras (pp. 71–92).

- De Blas, C., & Wiseman, J. (2010). *Nutrition of Rabbit, 2nd Edition* (CABI). Cambridge, MA, USA.
- De Jong, C. L. D., Paarlberg, K. M., Van Geijn, H. P., Van Kamp, G. J., Van Dis, H., & Dekker, G. A. (2000). Maternal thromboxane and prostacyclin levels in relation to fetal birth weight. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, *93*(1), 65–69. [https://doi.org/10.1016/S0301-2115\(00\)00266-9](https://doi.org/10.1016/S0301-2115(00)00266-9)
- Erdman, J. W., Bierer, T. L., & Gugger, E. T. (1993). Absorption and Transport of Carotenoids. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *691*, 76–85. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1993.tb26159.x>
- Febles, C., Soto, C., Saldaña, A., & García, B. (2002). Funciones de la vitamina E. *Revista Cubana Estomatol*, *40*(1), 28–32.
- Futia, L. C., & Acuff, R. V. (1996). Transport of vitamin E across the perfused placenta studies using deuterolabeled tocopherols. *Journal of the American Dietetic Association*, *96*(9). [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0002-8223\(96\)00359-8](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0002-8223(96)00359-8)
- Gould, A., Itasaki, N., & Krumlauf, R. (1998). Initiation of rhombomeric Hoxb4 expression requires induction by somites and a retinoid pathway. *Neuron*, *21*(1), 39–51. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80513-9](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80513-9)
- Grune, T., Lietz, G., Palou, A., Ross, A. C., Stahl, W., Tang, G., ... Biesalski, H. K. (2010). Betacarotene is an important vitamin A source. *The Journal of Nutrition*, *140*, 2268S–2285S. <https://doi.org/10.3945/jn.109.119024>
- Guérin, P., El Mouatassim, S., & Ménézo, Y. (2001). Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. *Human Reproduction Update*, *7*(2), 175–189. <https://doi.org/10.1093/humupd/7.2.175>
- Gutierrez-Mazariegos, J., Theodosiou, M., Campo-Paysaa, F., & Schubert, M. (2011). Vitamin A: A multifunctional tool for development. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, *22*(6), 603–610. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2011.06.001>
- Hernández, Á. G. (2005). Tratados de Nutrición: Fases fisiológicas y bioquímicas de la nutrición. *Nutricion Hospitalaria*, *20*(6), 436–439.

- Herrera, C. A. M., & García, G. A. (2008). Beta carotene supplementation, ovarian activity and sericeous levels of insulin type 1 growth factor in goats under increased photoperiod, *Revista Chapingo Serie Oricultura*, 7(1), 83–90.
- Hickenbottom, S. J., Follett, J. R., Lin, Y., Dueker, S. R., Burri, B. J., Neidlinger, T. R., & Clifford, A. J. (2002). Variability in conversion of B-carotene to vitamin A in men as measured by using a double-tracer study design. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 75(5), 900–907. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/ajcn/75.5.900>
- Idris, S. Y., Audu, H. A., Lawal, M., Ibinaiye, P. O., Fadason, S. T., & Muazu, B. N. (2016). Sonographic diagnosis of pregnancy and study of gestational changes in rabbit-does. *Nigerian Veterinary Journal*, 37, 133–139.
- Inaba, T., Mori, J., & Tori, R. (1986). Use of echography in rabbits for pregnancy diagnosis. *Japanese Journal of Veterinary Research*, 48, 1003–1006. <https://doi.org/10.1292/jvms1939.48.1003>
- Institute of Medicine. (2000). *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids*. (Food and Nutrition board, Ed.) (National A). Washington (DC).
- Kiefer, C., Hessel, S., Lampert, J., Vogt, K., Lederer, M. O., Breithaupt, D. E., & von Lintig, J. (2001). Identification and characterization of a mammalian enzyme catalyzing the asymmetric oxidative cleavage of provitamin A. *The Journal of Biological Chemistry*, 276(17), 14110–14116. <https://doi.org/10.1074/jbc.M011510200>
- Korc, D., Bidegain, M., & Martell, M. (1995). Radicales libres bioquímica y sistemas antioxidantes implicancia en la patología neonatal. *Revista Médica del Uruguay*, 11, 121–135.
- Klockenbusch, W., Goecke, T. W., Krüssel, J. S., Tutschek, B. A., Crombach, G., & Schrör, K. (2000). Prostacyclin deficiency and reduced fetoplacental blood flow in pregnancy-induced hypertension and preeclampsia. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, 50(2), 103–107. <https://doi.org/10.1159/000010292>
- Lebas, F. (2000). Vitamins in rabbit nutrition: Literature review and recommendations. *World Rabbit Science*, 8(4), 185–192.
- Lee, C. M., Boileau, A. C., Boileau, T. W. M., Williams, A. W., Swanson, K. S., Heintz, K. A., & Erdman, J. W. (1999). Review of animal models in carotenoid research. *The Journal of Nutrition*, 129(125), 2271–2277. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/jn/129.12.2271>

- Lindqvist, A., He, Y., & Andersson, S. (2005). Cell type-specific expression of B-carotene 9', 10'-monooxygenase in human tissues. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 53(11), 1403–1412. <https://doi.org/doi.org/10.1369/jhc.5A6705.2005>
- Liu, S., Masters, D., Ferguson, M., & Thompson, A. (2014). Vitamin E status and reproduction in sheep : Potential implications for Australian sheep production. *Animal Production Science*, 54, 694–714. <https://doi.org/https://doi.org/10.1071/AN13243>
- McDonald, P., Greenhalgh, J., & Morgan, C. (2002). *Nutricion Animal*. Editorial Acribia. México.
- Meléndez, A., Vicario, I., & Heredia, F. (2007). Pigmentos carotenoides. consideraciones estructurales y fisicoquímicas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 57(2).
- Moghaddam, M. F., Cheeke, P. R., & Patton, N. (1996). Toxic effects of vitamin A on reproduction in female rabbits. *Journal Applied Rabbit*, 1, 29–46.
- Najjar, A., Saïd, B., Najjar, T., Kalamoun, S., Ben Khalifa, N., Ben Aïcha, E., & Ben Mrad, M. (2013). Influence of vitamins C and E on sperm motility of rabbit bucks. *World Rabbit Science*, 1174(May), 45–48. <https://doi.org/10.4995/wrs.2013.1174>
- Niki, E. (1987). Antioxidants in relation to lipid peroxidation. *Chemistry and Physics of Lipids*, 44, 227–253. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0009-3084\(87\)90052-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0009-3084(87)90052-1)
- Nishimura, M. (2001). Timing of implantation in New Zealand White rabbits. *Congenital Anomalies*, 41, 198–203. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1741-4520.2001.tb00833.x>
- Pomarolli R., G., & Pizarro A., F. (2016). *Efecto del retinol palmitato y B-caroteno sobre la disponibilidad de hierro no hemínico en mujeres de edad fértil (INTA)*. Retrieved from [http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/143605/Tesis Giannina Pomarolli.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/143605/Tesis_Giannina_Pomarolli.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Quintela, A. L., Becerra, J. J., Díaz, C., & Herradón, P. G. (2008). Papel del beta-caroteno y la vitamina A en la reproducción en el ganado vacuno: revisión. *Información Técnica Económica Agraria*, 104(3), 399–410.

- Romero, T. F., Hernández, S. C., Román, G. S., Calderón, A. P., Sosa, V. M. R., Guzmeli, C. A. P., ... Martínez, T. C. (2012). Embriopatía diabética en ratas y efecto de un suplemento nutricional de vitamina E durante la gestación. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 12(2), 176–186.
- Salem, A. A., & Gomaa, Y. A. (2014). Effect of combination vitamin E and single long-acting progesterone dose on enhancing pregnancy outcomes in the first two parities of young rabbit does. *Animal Reproduction Science*, 150(1–2), 35–43. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.08.003>
- Salem, A., Hussein, H., Gomaa, Y., & Allam, F. (2018). Effect of progesterone with vitamin E on pregnancy in young rabbit does. *American Journal of Advanced Drug Delivery*, 06(02). <https://doi.org/10.21767/2321-547x.1000028>
- SAS. (2016). SAS/STAT User's guide. (Release 9.1) SAS Publishing, Cary (NC), 1-7:5180.
- Sayago, A., Marín, M. I., Aparicio, R., & Morales, M. T. (2007). Vitamina E y aceites vegetales, 3495(1), 74–86.
- Schencke, C., Rojas, M., & del Sol, M. (2008). Evaluación morfométrica de la relación embrio-uterina de las etapas pre y post implantacional en conejo (*Oryctolagus cuniculus*). *International Journal of Morphology*, 26(4), 995–1004. <https://doi.org/10.4067/S0717-95022008000400035>
- Scholl, T. O., Chen, X., Sims, M., & Stein, T. P. (2006). Vitamin E: Maternal concentrations are associated with fetal. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 84(6), 1442–1448. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/ajcn/84.6.1442>
- Sevgi, T., Rag Yp Kilicarslan, M., & Sabunco, A. (2002). Tavslanlarda beta karoten in fertilité Üzerine etkisi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 26(3), 497–502.
- SMN. (2019). Sistema Meteorológico Nacional. Retrieved from <https://smn.conagua.gob.mx/es/>
- Sockanathan, S., & Jessell, T. M. (1998). Motor neuron-derived retinoid signaling specifies the subtype identity of spinal motor neurons. *Cell*, 94(4), 503–514. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81591-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81591-3)

- Spiegler, E., Kim, Y. K., Wassef, L., Shete, V., & Quadro, L. (2012). Maternal-fetal transfer and metabolism of vitamin A and its precursor  $\beta$ -carotene in the developing tissues. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1821(1), 88–98. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2011.05.003>
- Varga, M. (2013). *Textbook of Rabbit Medicine* (Butterwort, Vol. 2). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/C2011-0-05821-0>
- Vogel, S., Piantedosi, R., Byrne, S. M. O., Kako, Y., Quadro, L., Gottesman, M. E., ... Blaner, W. S. (2002). Retinol-binding protein-deficient mice: Biochemical basis for impaired vision. *Biochemistry*, 41, 15360–15368. <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/bi0268551>
- Von Lintig, J., Kiser, P. D., Golczak, M., & Palczewski, K. (2010). The biochemical and structural basis for trans-to-cis isomerization of retinoids in the chemistry of vision. *Trends in Biochemical Sciences*, 35(7), 400–410. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2010.01.005>
- Walton, A. (1958). Improvement in the desing of an artifical vagina for the rabbit. *Phisiology*, 143, 26–28.
- Wang, X., Russell, R. M., Liu, C., Stickel, F., Smith, D. E., & Krinsky, N. I. (1996). B-oxidation in rabbit liver in vitro and in the perfused ferret liver contributes to retinoic acid biosynthesis from B-apocarotenoic acids. *The Journal of Biological Chemistry*, 271(43), 26490–26498. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.43.26490>
- Wang, Y., Walsh, S. W., Guo, J., & Zhang, J. (1991). The imbalance between thromboxane and prostacyclin in preeclampsia is associated with an imbalance between lipid peroxides and vitamin E in maternal blood. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 165(6), 1695–1700. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(91\)90017-L](https://doi.org/10.1016/0002-9378(91)90017-L)
- Wassef, L., Shete, V., Hong, A., Spiegler, E., & Quadro, L. (2012). B -carotene supplementation decreases placental transcription of LDL receptor-related protein 1 in wild-type mice and stimulates placental B-carotene uptake in marginally vitamin A-deficient mice. *The Journal of Nutrition*, 142, 1456–1462. <https://doi.org/10.3945/jn.112.162677.b>
- Webster, R. P., Roberts, V. H. J., & Myatt, L. (2008). Protein nitration in placenta—functional significance. *Placenta*, 29, 985–994. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2008.09.003>

- Weiss, W. P., Hogan, J. S., Todhunter, D. A., & Smith, K. L. (1997). Effect of vitamin E supplementation in diets with a low concentration of selenium on mammary gland health of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *80*(8), 1728–1737. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76105-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76105-8)
- Xiccato, G. (1996). Nutrition of lactating does. *World Rabbit Congresses*, *1*, 29–47. Retrieved from <https://world-rabbit-science.com/WRSA-Proceedings/Congress-1996-Toulouse/Papers-pdf/01-Nutrition/02-XICCATO.pdf>
- Ypsilantis, P., & Saratsis, P. (1999). Early pregnancy diagnosis in the rabbit by real time ultrasonography. *World Rabbit Science*, *7*(2), 95–99.