

RELACIÓN EDAD Y GESTACIÓN EN LA RATA WISTAR. LABINCIMED. OCTUBRE-NOVIEMBRE 2014

AGE AND GESTATION RELATIONSHIP IN WISTAR RAT. LABINCIMED. OCTOBER-NOVEMBER 2014

Fernández Segovia Aylén Érika Soledad¹, Ávalos Saravia Carla Abigail¹, Blas Zabalia Alexia¹,
Hualampa Moscoso Yhoselyn Dayana¹, Pocoata Zenteno Mónica Gilda¹, Camargo Arce Lorena²

¹Investigadora Junior del Laboratorio de Investigación en Ciencias Médicas, Facultad de Medicina, UAJMS

²Directora e Investigadora del Laboratorio de Investigación en Ciencias Médicas, Docente Titular de la
Facultad de Medicina, UAJMS

Dirección para la correspondencia: Lorena Camargo Arce Directora LABINCIMED
Correo Electrónico: lorenacamargo22@gmail.com

RESUMEN

La fertilidad disminuye según aumenta la edad. El número de folículos primordiales limita la fertilidad de las hembras y el periodo reproductivo; que es de 2 a 17 meses en la rata albina. A medida que aumenta la edad de las ratas productoras, disminuye el éxito del apareamiento, por lo que debiera establecerse el periodo en el que la capacidad reproductora de la rata es la óptima y en la que se obtengan 8 a 12 crías promedio por camada.

Metodología: Investigación básica experimental, diseño comparación de grupos con aleatorización. Realizado en el laboratorio de investigación en Ciencias Médicas con ratas criadas bajo condiciones estándares para animales de laboratorio, en Octubre y Noviembre 2014. Se usaron 13 ratas Wistar hembras en tres grupos de estudio según edad.

Los resultados fueron: grupo de 3 meses de edad presentó gestación del 100% de ratas apareadas, una media de 12 crías al término, se obtuvo 95% de crías vivas al finalizar la lactancia. Grupo de 12 meses de edad presentó gestación del 20% de ratas cruzadas, se obtuvo 6 crías, 50% de crías vivas. Grupo de 14 meses de edad presentó 0% de gestación.

Se concluye que el periodo fértil y la mayor capacidad para una gestación y obtención de camada normal es a partir de 3 meses de edad hasta

probablemente 8 a 10 meses, ya que a los 12 meses se encontró disminuida la capacidad reproductora de la rata albina. Este resultado es relevante para planificar la producción de ratas.

Palabras clave:

Gestación, fertilidad, edad, capacidad reproductora

ABSTRACT

Fertility decreases with increasing age. The number of primordial follicles limits the fertility of the females and the reproductive period; which is from 2 to 17 months in the albino rat. As the age of the producing rats increases, the mating success decreases, so the period in which the reproductive capacity of the rat is optimal and in which 8 to 12 average litters per litter should be obtained should be established.

Methodology: Experimental basic research, design comparison of groups with randomization. Performed in the medical science research laboratory with rats raised under standard conditions for laboratory animals, in October and November 2014. 13 female Wistar rats were used in three study groups according to age.

The results were: group of 3 months of age presented gestation of 100% of paired rats, an average of 12 pups at term, 95% of live pups were

obtained at the end of lactation. Group of 12 months of age presented gestation of 20% of crossed rats, 6 offspring, 50% of live offspring were obtained. Group of 14 months of age presented 0% of gestation.

It is concluded that the fertile period and the greater capacity for a normal gestation and obtaining of litter is from 3 months of age to probably 8 to 10 months, since at 12 months the reproductive capacity of the albino rat was reduced. This result is relevant for planning the production of rats.

Keywords:

Pregnancy, fertility, age, reproductive capacity

1. INTRODUCCIÓN

La gestación en las ratas Wistar durante mucho tiempo fue motivo de investigación tanto por parte de profesionales especialistas en el área y estudiantes, para la construcción de la base sólida de su conocimiento médico.

El número de folículos primordiales limita la fertilidad de las hembras y el periodo de vida reproductiva de las mismas (Gómez-Piquer, 2003). El número y calidad de los folículos de reserva decrece con el aumento de la edad, lo que se correlaciona una disminución de la fertilidad (Díaz Montecinos, 2009).

Una interrelación exitosa entre los tejidos maternos y embrionario durante el periodo pre-implantacional activa mecanismos que preparan la implantación y el desarrollo de la preñez (Grosso, 2012).

La GnRH que se secreta a la eminencia media del hipotálamo, es conducida en la sangre hasta la hipófisis anterior, actúa en las células adenohipofisarias que poseen receptores específicos y responden liberando hormona folículo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH), éstas finalmente impactan a nivel gonadal estimulando la síntesis de esteroides sexuales en mayor medida estradiol y progesterona en hembras, y testosterona en machos (Urgellés Carrera, 2012). En condiciones normales, LH y FSH poseen un ciclo de secreción pulsátil ultradiano y semanal que genera el ciclo estral en la rata (Ongaro Gambino, 2014).

Las células de la granulosa son estimuladas por la FSH y por diversos péptidos intraováricos entre los

que se encuentra el factor de crecimiento insulínico (IGF-1) lo que conduce al inicio de la esteroidogénesis y diferenciación (Rearte, 2003). Se ha demostrado que tanto el desarrollo como la diferenciación de las células de la granulosa se encuentran limitados por el pasaje de androstendiona y testosterona a estradiol. La producción de estradiol es fundamental para establecer un ambiente endocrinológico esencial para el reclutamiento de folículos dominantes (Rearte, 2003). La leptina es una proteína que si bien fue descrita por primera vez en adipocitos, recientemente se ha encontrado el mRNA del receptor en ovario humano y por lo tanto se vio que su acción no era simplemente reguladora del apetito, sino que podría ser esencial para la fertilidad (Rearte, 2003). Recientemente se ha observado que mujeres con síndrome de ovario poliquístico obesas poseían niveles alterados de leptina (Rearte, 2003). Karlsson y col. demostraron que la leptina in vitro inhibía la producción de estrógenos por células de la granulosa humanas estimuladas in vitro con LH (Rearte, 2003). La leptina podría inhibir la respuesta del ovario a gonadotrofinas. Según lo planteado, la leptina, más allá de ser considerada como reguladora de la masa corporal y del apetito, es un péptido que interviene en el balance endocrino presente en el ovario y que niveles anormales de la misma podrían conducir a condiciones patológicas (Rearte, 2003).

La gametogénesis, tanto en ratas como en humanos, se inicia en el periodo prenatal, etapa en que comienza la proliferación de las células germinales por mitosis sucesivas para dar origen a los ovogonios. Posteriormente, estas células entran en meiosis I e interrumpen el proceso, quedando en diploteno de la profase I, a partir de este momento pasan a llamarse ovocitos, los que reiniciarán la meiosis en la pubertad. Los ovocitos se rodean de células pregranulosa para formar la unidad funcional del ovario, el folículo. El desarrollo de los folículos comienza en la etapa prenatal en humanos y en los primeros días postnatales en muridos, donde los ovocitos son rodeados de células granulosas con forma aplanadas, esta interacción ovocito-granulosa da lugar a la formación de los folículos primordiales. Los folículos primordiales ya formados constituyen el pool de reserva del ovario. Este pool disminuye

drásticamente con la edad, de hecho después del nacimiento, en humanos, sólo cerca de un 20% del total de los ovocitos iniciales forman parte de la reserva folicular (Díaz Montecinos, 2009). Una vez que se inicia el periodo reproductivo en la pubertad, ocurre la selección de folículos primordiales para iniciar su crecimiento y continuar con el desarrollo folicular durante cada ciclo (Díaz Montecinos, 2009).

La función ovárica es regulada por dos vías: endocrina y nerviosa. La primera está dada por la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), la cual se produce en el hipotálamo y estimula la síntesis y liberación de gonadotropinas (FSH y LH) desde la hipófisis. La FSH estimula el desarrollo y crecimiento folicular durante cada ciclo, y LH permite la ovulación de los folículos preovulatorios que crecieron por efecto de FSH (Díaz Montecinos, 2009). La segunda vía, que también comienza en el hipotálamo, se proyecta hacia la médula espinal para salir y hacer un relevo en el ganglio celíaco, lugar donde se ubica el soma de las neuronas simpáticas que proyectan sus terminales nerviosos hacia el ovario (Díaz Montecinos, 2009).

La progesterona y sus metabolitos poseen un amplio espectro de actividad biológica sobre el sistema nervioso central y periférico. Estos efectos incluyen su bien conocida participación en la reproducción, pero además, influyen en la regulación de otros aspectos conductuales (Gutiérrez-García, 2000).

La reserva de folículos primordiales en el ovario es el factor principal que determina la duración del periodo fértil en la mujer. La edad óptima de fertilidad en la mujer se ha establecido entre los 18 y 31 años. Después de este periodo, la fertilidad comienza a decrecer, hasta llegar al periodo crítico de subfertilidad, que se establece alrededor de los 38 años de edad (Díaz Montecinos, 2009).

Estudios realizados en ratas demuestran que, al igual que lo que ocurre en humanos, existe una disminución del número de folículos con la edad, que se correlaciona con una disminución en la fertilidad (Díaz Montecinos, 2009). Se ha observado que al final del periodo reproductivo en ratas, después de los 12 meses de edad, se produce un incremento

en la concentración y liberación de noradrenalina, dando cuenta de un aumento en la actividad nerviosa simpática con la edad, lo que se relaciona con el aumento espontáneo de folículos quísticos observado en ovarios de ratas de 12 y 14 meses de edad (Díaz Montecinos, 2009). Esto también se ha observado en ratas jóvenes, donde la generación de quistes ovárico mediante la inyección subcutánea de valerato de estradiol, va acompañado de un aumento en la actividad nerviosa simpática. (Díaz Montecinos, 2009).

Producida la fecundación, la implantación del blastocisto, además de un estricto control genético intrínseco al trofoblasto, requiere de la acción local de diferentes factores maternos, entre ellos, los estrógenos muestran efectos prooxidantes y antioxidantes sobre los lípidos (Corría Osorio, 2009).

En el modelo mudo, la rata presenta un aumento en la concentración de noradrenalina intraovárica y un incremento en el número de folículos tipo III y quistes ováricos a medida que envejece. Como consecuencia, disminuye el número de cuerpos lúteos, el porcentaje de ovulación y el número de partos y crías. Por otro lado, en el ovario poliquístico en rata inducido con estímulos hormonales y/o ambientales, se generan características similares a las descritas en el envejecimiento ovárico (Díaz Montecinos, 2009).

Se observan algunas características típicas del envejecimiento ovárico, como incremento de la concentración de noradrenalina, disminución de la población folicular y aumento de folículos tipo III. En la función esteroideogénica, se observó un perfil hormonal sérico similar al del envejecimiento. Estos resultados sugieren que el aumento intraovárico de factor de crecimiento neuronal participa en el envejecimiento del ovario, favoreciendo la aparición de las características observadas al final del periodo reproductivo (Díaz Montecinos, 2009).

El periodo de subfertilidad se encuentra entre los 8 y 10 meses de edad, ya que en estas edades la fertilidad está disminuida cerca del cincuenta por ciento y los ovarios a estas edades aún presentan características juveniles, es decir aún tienen cuerpos lúteos (Díaz Montecinos, 2009).

Hunt (2006) ha planteado que los factores inmunosupresores derivados del concepto y de la madre ayudan a proteger al feto del rechazo inmunológico (Grosso, 2012). Morton (1974) reportaron en murinos que la formación de rosetas espontáneas entre linfocitos y eritrocitos era inhibida cuando los linfocitos de macho o de hembras no preñadas eran preincubados con sueros de ratones preñadas (Grosso, 2012). Este efecto inhibitorio fue causado por una sustancia asociada a la preñez llamada factor precoz de preñez. Bajo condiciones fisiológicas normales el factor precoz de preñez es detectado solo durante la preñez y liberado en respuesta a la presencia del embrión luego de 4 horas post fertilización según Cavanagh (1982). El factor precoz de preñez tipo A es sintetizado en oviducto durante el estro y la preñez, mientras que el factor precoz de preñez tipo B está asociado con la preñez exclusivamente y es producido por el ovario en el periodo pre-implantacional y el embrión, periodos peri y post-implantacional, según Morton (1992a). El factor precoz de preñez es un factor importante en el establecimiento de una preñez exitosa; pudiendo actuar como un factor de crecimiento y un agente inmunosupresor (Morton, 1992b; Corrao, 2010) (Grosso, 2012).

En otro estudio, la mejor tasa de embarazo fue obtenida en el grupo de mujeres menores de 30 años (42,4%) comparado con el 12,5% obtenido por el grupo de mujeres de 40 o más años. La tasa de fertilización en las mujeres menores de 30 años fue 55,1% frente al 42,6% alcanzado por las mujeres mayores de 40 años. Existiendo una marcada declinación en la obtención de embarazos relacionados con la edad en mujeres mayores de 40 años que utilizan un procedimiento de fertilización asistida compleja, usando ovocitos autólogos (Celis, 2000).

Otros estudios plantean mejorar la fertilidad y la capacidad de concluir la gestación, en uno de ellos se logra incremento de la fertilidad de ratas en condiciones experimentales con el subextracto metanólico de la hojas de *Tagetes filifolia* (anisillo) (Bonilla, 2008).

Los procesos conductuales asociados con el nacimiento y cuidado de las crías son esenciales para la supervivencia de los mamíferos. La supresión de la actividad reproductiva en las hembras durante el periodo posparto, es una estrategia adaptativa que favorece el bienestar del recién nacido según Nowak (2000). En la mayoría de los mamíferos, la lactancia suprime la actividad ovulatoria y el impacto del estímulo de amamantamiento en la fertilidad varía entre especies (Arroyo, 2009).

Entre un 10-15% de las parejas necesitan atención especializada para concebir un embarazo y este porcentaje aumenta significativamente con la edad de la mujer, y a partir de los 37 años, puede llegar a ser de hasta un 50% porque fisiológicamente declina la función reproductiva. Aunque el 51,1% de las pacientes con más de 35 años tiene como causa identificada de infertilidad la afección tubaria, y el 32,8% es causada por ciclos anovulatorios (Urgellés Carrera, 2012).

En el bioterio del Laboratorio de Investigación en Ciencias Médicas se ha observado que a medida que aumenta la edad de las ratas reproductoras disminuye el éxito del apareamiento, lo que afecta la realización de los ensayos, en tal sentido se hace necesaria la determinación del periodo de fertilidad de la rata producida en nuestro bioterio, así como la capacidad para continuar la gestación y concluirla. Por lo que debiera establecerse el periodo en el que la capacidad de la rata para la gestación es la óptima y se obtengan camadas de entre 8 a 12 crías.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Metodología

Tipo de Investigación: Básica experimental

Diseño metodológico: Comparación de los grupos en porcentaje de éxito, diseño aleatorio

Espacio y tiempo: El trabajo se realizó en el Laboratorio de Investigación en Ciencias Médicas de la Facultad de Medicina, Universidad Autónoma Juan Misael Saracho. Las ratas fueron criadas en el bioterio del laboratorio bajo condiciones estándares para animales de laboratorio: ciclos luz-oscuridad de 12 horas, temperatura de 20-24° C, humedad entre 40

a 50%. Agua y alimento a libre demanda. Durante el experimento se mantuvieron en estas condiciones en el bioterio. El trabajo fue realizado en los meses de Octubre y Noviembre de 2014.

Población y muestra:

La población de estudio fue ratas albinas de la cepa Wistar del Bioterio del Laboratorio de Investigación en Ciencias Médicas. Se seleccionaron al azar las ratas que cumplen criterios y se distribuyeron en tres grupos de estudio:

Grupo control:

3 ratas hembras de 3 meses de edad

Grupo experimental:

5 ratas hembras de 12 meses de edad

Grupo experimental:

5 ratas hembras de 14 meses de edad

Total animales para estudio: 13.

Variables estudiadas:

Edad de la rata gestante:

dentro del periodo reproductivo 3 meses a 14 meses

Control peso:

para evolución de la gestación

Número de crías:

obtenidas al finalizar la gestación

Número de crías vivas: al final de la lactancia

Materiales:

Balanza digital con sensibilidad de 0.01 gramos, marca Boeco.

Criterios de inclusión y exclusión:

Se incluyeron las ratas hembras que han sido apareadas durante 10 días y que se encuentran entre 3 a 14 meses de edad. Se excluyeron las ratas hembras que no han sido apareadas o no están comprendidas en el rango de edad estudiado.

Duración: fue de 45 días

Los procedimientos que se emplearon fueron:

Control de peso cada 3 días

Observación de la conducta de ratas albinas 1 vez/semana

Registro de seguimiento de las ratas gestantes.

Estadística:

Se utilizó el Excel para elaboración de resultados, se calculó porcentaje de éxito como medida de frecuencia, y promedio en la comparación de grupos.

Aspectos éticos en el trabajo con animales de laboratorio

Reducción:

Se trabajó con un número de animales reducido.

Manipulación:

Fueron manipulados por un personal capacitado.

Ambiente:

Permanecieron en un medio adecuado con óptima temperatura, ventilación, nivel de humedad e iluminación. (Arroyo, 2007)

3. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en nuestra investigación fueron los siguientes:

Una vez comprobada la presencia de ciclos estrales en los tres grupos de estudio constituidos por 13 ratas albinas hembras, se las puso en apareamiento con 5 machos reproductores. Al cumplir los 10 días de alojamiento conjunto con el macho, se procedió a separarlas, manteniendo los 3 grupos de estudio.

En todas las ratas del grupo de 3 meses de edad, se comprobó la crúza a través de la presencia de tapón o espermatozoides. Durante el control de peso se obtuvo incremento en todas las ratas, correspondiéndose con los cambios gestacionales, este incremento se representa en la tabla 1.

TABLA 1. control peso en gr. según grupos de ratas hembras durante 21 días y diferencia total

EDAD	Cruza	Inicio	Día 3	Día 6	Día 9	Día 12	Día 15	Día 18	Día 21	Incremento
R3m-1	233	234	247	262	268	270	286	288	303	69
R3m-2	230	232	268	276	293	298	325	325	380	148
R3m-3	235	240	247	257	263	274	296	296	334	94
Promedio	232,7	235,3	254,0	265,0	274,7	280,7	302,3	303,0	339,0	103,7
R12m-1	303	304	309	313	312	314	316	318	318	14
R12m-2	320	324	329	333	336	342	352	358	386	62
R12m-3	354	354	354	354	357	363	370	371	376	22
R12m-4	313	313	315	316	323	324	326	329	329	16
R12m-5	327	327	328	328	323	324	324	325	325	-2
Promedio	323,4	324,4	327	328,8	330,2	333,4	337,6	340,2	346,8	22,4
R14m-1	316	319	319	319	319	320	321	322	322	3
R14m-2	331	332	333	335	340	343	344	340	338	6
R14m-3	323	325	326	327	327	328	328	328	328	3
R14m-4	346	347	347	346	346	347	346	346	345	-2
R14m-5	347	347	346	347	347	346	346	346	344	-3
Promedio	332,6	334,0	334,2	334,8	335,8	336,8	337	336,4	335,4	2,8

FUENTE. Elaboración Propia

En esta tabla se observa el incremento de peso de aquellas ratas que se encontraban en gestación, con un promedio para el grupo de ratas de 3 meses de edad de 103,7 gramos.

En el grupo de ratas de 12 meses de edad, se detectó solamente una rata con incremento de peso que sugería un proceso de gestación, la misma que posteriormente tuvo 6 crías, según tabla 1 y tabla 2.

El grupo de 14 meses de edad no presentó incremento a lo largo de los 21 días de control. Aunque al inicio del experimento, una rata tuvo un incremento por encima de las demás al tercer día, sugiriendo haber iniciado la gestación, pero posteriormente no presentó variaciones de peso, comprobándose la ausencia de gestación o la interrupción de la misma al no obtenerse ninguna cría, según tabla 1 y tabla 2.

TABLA 2. grupos de ratas según porcentaje de éxito

N°	GRUPO	Cantidad	Gestación	Concluye	%
1	3 meses	3	3	3	100
2	12 meses	5	1	1	20
3	14 meses	5	1	0	0

El porcentaje de éxito se expresa en el tabla 2.

En esta tabla observamos el porcentaje de ratas que gestaron y tuvieron crías sobre el total de ratas cruzadas por grupo.

Se obtuvo el 100% de éxito en la gestación del grupo de 3 ratas albinas de 3 meses de edad. En el grupo de 12 meses encontramos el 20% de éxito y en el grupo de 14 meses falló el apareamiento o no culminó la gestación en la rata que se suponía lo había iniciado según comprobación de la presencia de tapón poscoital.

TABLA 3. Grupos de ratas según el número de crías obtenidas

CÓDIGO	TOTAL CRÍAS	CRÍAS VIVAS	%	CRÍAS MUERTAS	%	HEM-BRAS	MA-CHOS
R3m-1	12	12	100	0	0,0	5	7
R3m-2	14	12	85,7	2	14,3	5	7
R3m-3	12	12	100	0	0,0	6	6
Promedio	12,7	12,0	95,2	0,7	5,3	5,3	6,7
R12m-2	6	3	50	3	50,0	1	2
Promedio	6	3	50	3	50,0	1	2

FUENTE: elaboración propia

En la tabla 3 se observa el detalle de crías obtenidas, con una media de 12,7 crías por rata gestante en el grupo de ratas de 3 meses de edad.

El promedio de crías obtenidas es de 12 en el grupo de 3 meses de edad, con todas las crías vivas al finalizar el periodo de lactancia; mientras que en la única rata del grupo de 12 meses de edad que tuvo crías, éstas fueron 6, de las que murieron 3, obteniéndose 3 al finalizar la lactancia, según la tabla 3.

En las figuras 2 y 3 se observan a las crías obtenidas.



Figura 1: Se observa la camada obtenida de una rata gestante del grupo de 3 meses de edad.



Figura 2: A la conclusión del periodo de gestación, se realizó el registro de crías nacidas vivas. Las crías muertas en los primeros días son devoradas por la madre.

4. DISCUSIÓN

Observamos dos resultados importantes:

Primer resultado, la edad gestacional inició antes de los 3 meses de edad, puesto que se ha obtenido el 100% de éxito en este grupo de estudio, con promedio de crías de 12 que se han obtenido en el bioterio del

Laboratorio de Investigación en Ciencias Médicas, según registros. La edad de la rata en la que falla el apareamiento, la gestación y disminuye la capacidad para dar un número adecuado de crías fue antes de los 12 meses de edad, probablemente la disminución de la fertilidad sea a partir de los 10 meses de edad, ya que a los 12 meses se encontró disminuida la capacidad reproductora de la rata albina; no debiendo en el futuro planificar cruza con ratas reproductoras que lleguen a esta edad. Estos hallazgos nos muestran un periodo de fertilidad menor a lo planteado anteriormente por otros investigadores (Gómez-Piquer, 2003), que afirman un periodo fértil hasta los 17 meses de edad; en el caso nuestro a los 14 meses el periodo fértil ha concluido; éste resultado fue coincidente con la subfertilidad que expresan otros autores (Díaz Montecinos, 2009) ubicándolo a partir de 10 meses.

En el grupo de ratas de 14 meses, se planteó según datos de control peso, que una de las 5 ratas había iniciado la gestación, debido al incremento de peso registrado en los primeros días, luego no se registraron cambios sugerentes de preñez, esto podría deberse a reabsorción de las crías en la primera semana.

Segundo resultado, en el caso de la rata del grupo de 12 meses de edad que continuó la gestación, el número de crías fue inferior al que normalmente se obtiene por camada, que corresponde a 8-12 crías; esto también sugiere disminución de la fertilidad y/o capacidad para sostener metabólicamente la gestación del número normal de crías, según los estudios revisados (Díaz Montecinos, 2009 y Gómez-Piquer, 2003) esto probablemente debido al incremento de la edad.

Estos resultados nos sugieren que a medida que las ratas pasan de esta edad disminuye la capacidad de apareamiento, gestación y número de crías por camada, lo que nos conduce a plantear nuevos periodos de cruce y reproducción para las ratas hembras productoras: el periodo establecido de fertilidad se encontró entre los 3 a 10 meses de edad en las ratas que se producen en el bioterio del Laboratorio de Investigación en Ciencias Médicas de la Facultad de Medicina de la UAJMS.

Se concluye que el periodo fértil y la mayor capacidad para una gestación y obtención de camada normal fue a partir de 3 meses de edad hasta probablemente 8 a 10 meses, ya que a los 12 meses se encontró disminuida la capacidad reproductora de la rata albina. Este resultado es relevante para planificar la producción de ratas en el bioterio de LABINCIMED por año, pudiendo destinarse lotes de animales para reproducción comprendidos en estas edades a partir del presente estudio, ya que el éxito de la producción y del cumplimiento de trabajos de investigación que se planifiquen en nuestro laboratorio estará en dependencia de la edad de las ratas hembras reproductoras.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

1. Armas González, Eilín; Cabezas Alfonso, Hildefonso; González Mompeller, Maribel; Díaz del Pino Rafaela. Cuba. Influencia de distintos niveles de ácido fólico en defectos del cierre del tubo neural en ratas Wistar (i)
2. Arroyo J, Magaña-Sevilla H. and Camacho-Escobar M.A. 2009. Neuroendocrine regulation of postpartum anestrous in ewes. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 10 (2009): 301 – 312
3. Bonilla R. P, Lozano R. N, Arroyo A. J, Beltrán S. H. 2008. Efecto sobre la gravidez, la prolactina y hormonas sexuales en ratas del subextracto metanólico de hojas de *Tagetes filifolia* “Anisillo”. *Ciencia e Investigación* 11(1) Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM 2008. ISSN 1561-0861
4. Celis Lopez, Alfredo; Ascenzo A., Javier; Ascenzo A., Augusto; Ascenzo A., Alvaro. 2000. Influencia de la edad materna en los resultados de fertilización asistida compleja / Influence of maternal age in the results of complex assisted fertilization. *Ginecol. & obstet*;46(1):33-9, ene. 2000. tab, graf. Lilacs ID 270789.
5. Corría Osorio J; Cruz Manzano E. 2009. Balance entre las especies reactivas y los sistemas antioxidantes en la gestación normal. *Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología*. 2009; 35(2)
6. Díaz Montecinos A.E. 2009. “El factor de crecimiento neuronal favorece el envejecimiento ovárico”. Tesis para optar por el título de Bioquímico. Universidad de Chile Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Corría Osorio J; Cruz Manzano E. 2009. Balance entre las especies reactivas y los sistemas antioxidantes en la gestación normal. *Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología*. 2009; 35(2)
7. Gómez-Piquer V, Rausell F, Hermenegildo C, García-Pérez MA, Cano A, Tarín JJ. 2003. Efecto de una reproducción continuada o intermitente sobre la función reproductiva de hembras de ratón de edad avanzada. *Revista Iberoamericana de Fertilidad*. Vol. 20- N°6 - Noviembre-Diciembre 2003
8. Grosso M.A, Bellingeri R.V, Motta C.E, Alustiza F.E, Picco N.Y, Vivas A.B. 2012. Efectos de la neutralización del factor precoz de preñez sobre el desarrollo de los embriones y el perfil de citoquinas. Primer Congreso Virtual de Ciencias Morfológicas. Primera Jornada Científica de la Cátedra Santiago Ramón y Cajal.
9. Gutiérrez-García A.G, Contreras C.M, Díaz-Meza J.L. 2000. Cómo actúa la progesterona sobre el sistema nervioso central. *Salud Mental* V. 23, No. 2, abril del 2000
10. Ongaro Gambino L. 2014. “Modificación neonatal de la actividad androgénica: impacto sobre la programación endocrino-metabólica en la rata hembra”. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional de La Plata Facultad de Ciencias Exactas.
11. Rearte M.B, Luchetti C.G, Sander V, González C, Di Girolamo G, Motta A.B. 2003. Efecto de la leptina en la producción de progesterona y estradiol por el ovario de rata. *Medicina (Buenos Aires)*2003; 63: 410-412.
12. Urgellés Carrera S.A, Reyes Guerrero E, Figueroa Mendoza M, Palazón Rodríguez A. 2012. Infertilidad en pacientes mayores de 35 años. *Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología*. 2012; 38(4)530-537