

## LA HORMONA ANTIMÜLLERIANA (AMH) Y LA RESPUESTA OVULATORIA A LA eCG EN CORDERAS PREPÚBERES COMO POSIBLES PREDICTORES DE SU FERTILIDAD EN LA PRIMERA CUBRICIÓN

LAHOZ, B.; ALABART, J.L.; ECHEGOYEN, E.; SÁNCHEZ, P. y FOLCH, J.

CITA de Aragón. Av. de Montañana 930. 50059-Zaragoza

blahozc@aragon.es

### RESUMEN

En ovino, los retrasos en la edad al primer parto dan lugar a periodos improductivos e importantes pérdidas económicas. Los objetivos de este trabajo fueron determinar si las concentraciones plasmáticas de AMH y la respuesta ovárica a la eCG antes de la pubertad estaban relacionadas con la precocidad sexual. Con este objetivo se tomaron muestras sanguíneas de 76 corderas de raza Rasa Aragonesa de 3,6 meses para el análisis de AMH y simultáneamente se inyectaron 600 UI de eCG para determinar 6 días después la ovulación mediante laparoscopia. Las concentraciones de AMH fueron 3-4 veces mayores en las corderas que ovularon que en las que no ( $P < 0,0005$ ). La fertilidad en la primera cubrición (a 10 meses) se correlacionó con la AMH ( $\rho = 0,34$ ,  $p < 0,01$ ), y con la presencia de ovulación en la edad prepúber ( $\rho = 0,25$ ,  $p < 0,05$ ). Las corderas con AMH  $\geq 97$  pg/ml o con ovulación  $\geq 1$  presentaron valores de fertilidad significativamente superiores (+34,8%,  $P < 0,001$  y +31,5%,  $P < 0,0001$ , respectivamente). En conclusión, la concentración plasmática de AMH podría ser un marcador del estado de madurez ovárica en la edad prepúber, permitiendo la selección precoz, mediante una única toma de sangre, de las corderas de reposición con mejor fertilidad predicha en su primera cubrición.

**Palabras clave:** ovulación, precocidad sexual, Rasa Aragonesa, selección

### INTRODUCCIÓN

Reducir la edad al primer parto reduce los costes de la reposición, aumenta la vida productiva y disminuye el intervalo generacional (Fogarty et al., 2007). En la Rasa Aragonesa, a pesar de que las corderas pueden cubrirse con éxito a los 7 meses, coincidiendo con la estación sexual, la edad media al primer parto es de 17-18 meses (Cea et al., 2000). Estos periodos improductivos conllevan un elevado coste para el ganadero, siendo los costes de mantenimiento de una oveja de esta raza durante un año de unos 90 € (Pardos et al., 2007). Por lo tanto, la búsqueda de marcadores genéticos o fisiológicos que permitan una selección de las corderas de mayor precocidad sexual sería de gran interés. Dichos marcadores deberían ser medibles antes de los 3 meses o 25 kg de peso vivo, para permitir la selección de la reposición antes de que se envíen a matadero y se comercialicen según las condiciones de la IGP “Ternasco de Aragón”.

Las ovejas nacen con un número limitado y muy variable de folículos y oocitos que disminuyen con la edad. Trabajos recientes sugieren una relación de la reserva folicular ovárica (folículos antrales en crecimiento que responden a las gonadotropinas) con la fertilidad de terneras jóvenes (Ireland et al., 2011), lo que parece poner de manifiesto su impacto sobre la vida reproductiva adulta. El mejor marcador endocrino de la reserva folicular del ovario en varias especies, como en la vaca, es la AMH (Rico et al., 2009).

Los objetivos del presente trabajo fueron, (1) determinar si la AMH puede ser detectada en el plasma de corderas prepúberes Rasa Aragonesa y evaluar su relación con la reserva folicular sensible a la eCG a esa edad y (2), investigar la relación de la

AMH y la respuesta ovulatoria en la edad prepúber con la fertilidad en la primera cubrición.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se realizó en el CITA de Aragón. Se utilizaron 76 corderas de raza Rasa Aragonesa de  $109 \pm 18$  días y de  $25,0 \pm 2,4$  kg (media  $\pm$  SD). Se sacó una muestra individual de sangre y el plasma se almacenó a  $-20^\circ\text{C}$  hasta su análisis. Simultáneamente, se inyectaron 600 UI de eCG y se determinó el número de ovulaciones por laparoscopia 6 días después. La concentración de AMH se determinó mediante un kit comercial (Active MIS/AMH ELISA Kit, Beckman Coulter France, Roissy CDG, France). El límite de detección fue 15 pg/mL, y los coeficientes de variación intra-ensayo fueron menores del 5%. En enero, cuando las ovejas tuvieron  $312 \pm 18$  días de edad y un peso de  $33,1 \pm 3,1$  kg, se pusieron a cubrir por primera vez utilizando 4 machos adultos de Rasa Aragonesa, que permanecieron durante 34 días.

Se analizaron las correlaciones mediante el coeficiente de Spearman ( $\rho$ ) y se usaron modelos lineales generalizados (ANOVA) para variables continuas, y Chi-cuadrado para variables dicotómicas. Se analizaron las curvas ROC (Receiver Operating Characteristic curve) para ambas pruebas (AMH y respuesta ovulatoria), utilizando el área bajo la curva (AUC) como medidor de su rendimiento global de predicción de la fertilidad en la primera cubrición. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software SAS.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La AMH se detectó en 71 de las 76 corderas (94%). Las concentraciones fueron muy variables entre los animales, desde 0 ( $n=5$ ) hasta 590 pg/mL. La AMH se correlacionó significativamente con la presencia de al menos una ovulación en respuesta a la eCG ( $\rho=0,42$ ;  $P<0,0001$ ). Ni la AMH ni el número de ovulaciones estuvieron correlacionadas con la edad ( $\rho=-0,19$  y  $\rho=0,13$ ; NS) o con el peso vivo ( $\rho=-0,08$  y  $\rho=0,04$ ; NS). Las corderas que no ovularon presentaron las menores concentraciones de AMH (Tabla 1).

**Tabla 1. Concentración plasmática (pg/mL) de hormona Anti-Mülleriana (AMH), peso (kg) y edad (d) en el momento de la estimulación con 600 UI de eCG, para los diferentes grupos de ovulación de corderas prepúberes (media  $\pm$  SEM).**

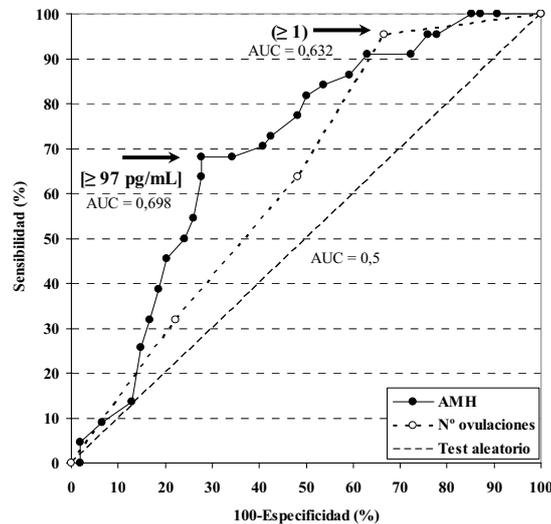
Nº ovulaciones	Nº ovejas	Peso	Edad	AMH
0	19	$25,0 \pm 0,4^a$	$108 \pm 2^a$	$43,0 \pm 14,6^a$
1-2	38	$25,1 \pm 0,4^a$	$111 \pm 3^a$	$111,9 \pm 18,1^b$
>2	19	$24,7 \pm 0,8^a$	$108 \pm 4^a$	$163,1 \pm 41,0^b$

Dentro de cada columna, <sup>a,b</sup>:  $P<0,0005$ .

La fertilidad en la primera cubrición fue del 28,9% (22/76) y estuvo correlacionada tanto con la concentración de AMH ( $\rho=0,34$ ,  $P<0,01$ ), como con la ovulación inducida por eCG en la edad prepúber ( $\rho=0,25$ ;  $P<0,05$ ). No hubo diferencias significativas ni en la edad ni en el peso entre las ovejas que quedaron gestantes o vacías. En la figura 1 se muestran los valores óptimos de corte ("cut-off") para la AMH y la ovulación en la edad prepúber para predecir la fertilidad en la primera cubrición en las condiciones del presente trabajo. El valor óptimo de AMH fue 97 pg/mL, correspondiendo con una sensibilidad del 68,2% (15/22) y una especificidad del 72,2% (39/54). El valor óptimo de ovulación fue  $\geq 1$  ovulaciones, lo que correspondió con una

sensibilidad del 95,5% (21/22) y una especificidad del 33,3% (18/54). El área bajo la curva de ambos test indicó que la exactitud global fue ligeramente superior para el test de la AMH (+0,066), aunque las diferencias no fueron significativas.

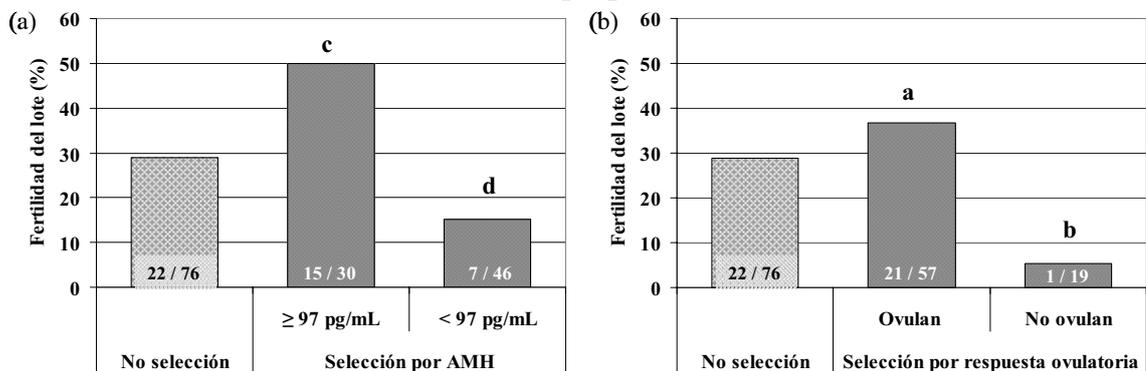
**Figura 1. Curvas ROC para la predicción de la fertilidad de corderas Rasa Aragonesa en la primera cubrición mediante la concentración plasmática de AMH o la respuesta ovulatoria a la eCG en su edad prepúber.**



Las flechas indican los puntos de corte “cut-off” para la AMH (corchetes) y el número de ovulaciones (paréntesis), y la línea discontinua un test aleatorio sin capacidad discriminante.

En la figura 2 se muestra la fertilidad predicha utilizando ambos tests. La fertilidad en la primera cubrición fue 34,8 puntos porcentuales mayor en la ovejas con valores de AMH  $\geq 97$  pg/mL que en aquellas con AMH  $< 97$  pg/mL, y 31,5 puntos porcentuales mayor en la ovejas que ovularon en la edad prepúber comparadas con las que no lo hicieron.

**Figura 2. Fertilidad real a la primera cubrición (no selección) y predicha mediante la utilización de los respectivos cut-off para la AMH y la ovulación inducida por eCG en su edad prepúber.**



Diferencias significativas: <sup>a,b</sup>:  $P < 0,0001$ ; <sup>c,d</sup>:  $P < 0,001$ .

En las condiciones del presente trabajo, la utilización de estos tests para la selección de las corderas de reposición supondría un incremento de la fertilidad en la primera cubrición de 21,1 puntos porcentuales para el test de la AMH y de 7,1 para la

ovulación inducida por eCG en la edad prepúber. Estos resultados ponen de manifiesto que aunque ambos test mostraron una precisión moderada desde un punto de vista estadístico, presentaron una gran importancia práctica, particularmente la AMH. Para su posible aplicación en campo, deberían tenerse en cuenta las condiciones particulares de cada ganadería, pero en cualquier caso sería recomendable la eliminación de las corderas con los valores más bajos de AMH.

## CONCLUSIONES

La determinación de AMH en una única muestra de plasma durante la edad prepúber podría ser útil para seleccionar las corderas de reposición más fértiles en la primera cubrición.

## AGRADECIMIENTOS

Financiado por INIA (proyectos RTA-2011-128 y RZP-2010-002, y beca predoctoral para B. Lahoz). Agradecimiento a D. Monniaux (INRA-Nouzilly) por el análisis de AMH.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CEA, R.; JURADO, J.J.; SERRANO, M.; EQUIPO VETERINARIO DE CARNES OVIARAGÓN S.C.L. (2000). Influencia de la edad al primer parto sobre la prolificidad y estudio del intervalo entre partos en la raza ovina "Rasa Aragonesa" en el contexto del esquema de selección de la UPRA-Carnes Oviaragón. XXV Jornadas Científicas y IV Internacionales de la SEOC. Teruel, 28-30 de septiembre del 2000. pp. 623-627.
- FOGARTY, N.M.; INGHAM, V.M.; GILMOUR, A.; AFOLAYAN, R.A.; CUMMINS, L.J.; EDWARDS, J.E.H.; GAUNT, G.M. (2007). Genetic evaluation of crossbred lamb production. 5. Age of puberty and lambing performance of yearling crossbred ewes. *Aust J Agr Res.* 58:928-34.
- IRELAND, J.J.; SMITH, G.W.; SCHEETZ, D.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; FOLGER, J.K.; IRELAND, J.L.H.; MOSSA, F.; LONERGAN, P.; EVANS; A.C.O. (2011). Does size matter in females? An overview of the impact of the high variation in the ovarian reserve on ovarian function and fertility, utility of AMH as a diagnostic marker for fertility and causes of variation in the ovarian reserve in cattle. *Reprod Fertil Dev.* 23:1-14.
- PARDOS, L.; MAZA, M.T.; FANTOVA, E. (2007). Influencia de la prolificidad en explotaciones ovinas de carne de raza Rasa en Aragón. *Archivos de Zootecnia*, 215:363-366.
- RICO, Ch.; FABRE, S.; MÉDIGUE, C.; di CLEMENTE, N.; CLÉMENT, F.; BONTOUX, M.; TOUZÉ, J.L.; DUPONT, M.; BRIANT, E.; BENOÎT, R.; BECKERS, J.F.; MONNIAUX, D. (2009). AMH is an endocrine marker of ovarian gonadotropin-responsive follicles and can help to predict superovulatory responses in the cow. *Biol Reprod.* 80:50-9.

## **ANTI-MÜLLERIAN HORMONE (AMH) AND OVARIAN RESPONSE TO eCG IN PREPUBERTAL EWE LAMBS AS POSSIBLE PREDICTORS OF THEIR FERTILITY AT FIRST MATING**

### **SUMMARY**

In sheep, delays at the age at first lambing lead to unproductive periods and significant economical losses. The objectives of this study were to determine whether plasma concentrations of AMH and ovarian response to eCG before puberty were related to sexual precocity. For this purpose, plasma was taken from 76 Rasa Aragonesa ewe lambs at 3,6 months of age for AMH determination, and simultaneously 600 IU of eCG was administered and the number of ovulations recorded 6 days later. AMH concentrations were 3–4-fold higher in ovulating than in non-ovulating ewe lambs ( $P < 0,0005$ ). Fertility at first mating (at 10 months) was correlated with AMH ( $\rho = 0,34$ ,  $p < 0,01$ ) and with the occurrence of ovulation at the prepubertal age ( $\rho = 0,25$ ,  $P < 0,05$ ). Ewe lambs with AMH  $\geq 97$  pg/mL or ovulation  $\geq 1$  displayed increased fertility (+34,8%,  $P < 0,001$  and +31,5%,  $P < 0,0001$ , respectively). In conclusion, plasma AMH concentration might be a reliable marker of the ovarian status of prepubertal ewe lambs, which could be useful to select for replacement ewes with a higher predicted fertility at first mating by a single AMH measurement early in age.

**Key Words:** ovulation, Rasa Aragonesa, selection, sexual precocity