

Gonadotropina coriónica humana y su relación con la función luteal y la respuesta reproductiva en ovinos

Human chorionic gonadotrophin and its relationship to luteal function and reproductive performance in ovine

CATALANO, R.¹; TERUEL, M.² Y CALLEJAS, S.¹

¹Departamento de Fisiopatología, ²Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Pinto 399 Tandil.

RESUMEN

En este trabajo se describen los diferentes procesos fisiológicos de la función luteal en relación al mantenimiento de la gestación. Se presenta una revisión de los resultados que evalúan los efectos de la aplicación de la gonadotropina coriónica humana (hCG) con la finalidad de reducir las pérdidas embrionarias. A partir de dicho análisis se sugiere que la hCG podría ser aplicada en ovinos con el objetivo de estimular la síntesis de progesterona luteal, la formación de cuerpos lúteos accesorios, la función uterina y/o placentaria, el crecimiento fetal, la fertilidad y la prolificidad.

Palabras clave: (hCG), (ovino), (cuerpo lúteo), (interferón tau), (preñez).

SUMMARY

This paper describes the different physiological processes of luteal function in relation to the maintenance of pregnancy. A review of the results evaluating the effects of the application of human chorionic gonadotropin (hCG) in order to reduce embryonic losses is presented. From this analysis it is suggested that hCG could be applied in sheep in order to stimulate the synthesis of luteal progesterone, the formation of accessory corpora lutea, uterine and placental function, fetal growth, fertility and prolificacy.

Key words: (hCG), (ovine), (corpora lutea), (interferon tau), (pregnancy).

INTRODUCCIÓN

La mortalidad embrionaria es uno de los factores que limitan la eficiencia reproductiva en los rebaños ovinos y un alto porcentaje de estas pérdidas ocurren entre los días 8 a 16 después del servicio. Una de las principales causas por las que se producen es debido a una inadecuada función luteal^{1,36,40,52} la cual puede estar asociada a una débil estimulación ovárica por parte de las gonadotrofinas durante el período periovulatorio¹⁶ o en los primeros días posteriores a la concepción⁴¹. En las ovejas, entre un 20 y un 40% de los ovocitos fertilizados no prosiguen en una gestación; en borregas, este valor se puede incrementar hasta un 50%⁴². En las borregas con estro sincronizado mediante un tratamiento con progestágenos y gonadotrofina coriónica equina (eCG), las pérdidas han alcanzado un 63%²⁴. Estos porcentajes impactan negativamente en los índices productivos y por ello, han surgido una serie de estudios en los que se ha evaluado la utilización de diferentes hormonas, con el fin de incrementar la actividad fisiológica del cuerpo lúteo. La gonadotrofina coriónica humana (hCG), por su función similar a la hormona luteinizante (LH), se ha empleado en ovinos con el objetivo de incrementar los niveles plasmáticos de progesterona, aumentar la prolificidad, el crecimiento fetal y el porcentaje de parición^{4,9,10,14,29,31,32,33,36}.

El hecho de lograr una adecuada concentración de progesterona es relevante dado que la misma juega un rol importante al controlar la secreción maternal de nutrientes uterinos, factores de crecimiento y agentes

inmunosupresores, requeridos tanto para un normal desarrollo embrionario como para el reconocimiento materno de la preñez (RMP)⁴⁷.

En función de lo planteado precedentemente, el tratamiento con hCG dentro de las dos primeras semanas de gestación surge como una terapia importante para contribuir con la disminución de las pérdidas embrionarias. Por tanto, los objetivos de esta revisión bibliográfica fueron: 1- Describir los principales procesos fisiológicos que interactúan para evitar la luteólisis y lograr el mantenimiento del cuerpo lúteo, en especial referencia durante la implantación embrionaria, 2- Analizar la información sobre la acción de la hCG administrada en hembras ovinas sobre la producción de progesterona luteal, la formación de cuerpos lúteos accesorios, el crecimiento fetal, la fertilidad y/o la prolificidad.

MANTENIMIENTO DEL CUERPO LÚTEO DURANTE LA IMPLANTACIÓN EMBRIONARIA

La implantación embrionaria es un proceso en el que intervienen el concepto (embrión o feto y sus membranas extraembrionarias) y el endometrio materno. La diferenciación del trofoectodermo es un evento substancial en el desarrollo y mantenimiento de la preñez temprana, dado que es el responsable de la secreción de la señal del RMP, que asegurará la continuidad de la funcionalidad del cuerpo lúteo. Desde hace varios años, se ha identificado que dicha señal se produce en ovinos al principio

de la gestación y está caracterizada como una proteína denominada interferón tau (IFNT)⁴³. En los animales domésticos, la diferenciación del trofoectodermo ocurre simultáneamente con la elongación del blastocisto; específicamente en ovinos, este proceso ocurre entre los días 10 y 17 de gestación⁴⁸. Las secreciones por parte del epitelio uterino, tales como proteínas transportadoras de nutrientes, iones, mitógenos, citoquinas, hormonas, enzimas, aminoácidos y glucosa, en conjunto constituyen el histotrofo y son esenciales en los ovinos para la transformación de un embrión esférico en uno tubular. Posteriormente adquiere una forma filamentosa, y sintetiza cantidades suficientes de IFNT para que se produzca el RMP²⁵.

Se considera que durante la implantación embrionaria se establece una ventana de receptividad uterina. Para que se lleve a cabo este proceso, se deben producir cambios en la expresión de los genes necesarios para la adhesión del trofoectodermo al epitelio luminal y al glandular superficial uterino. Spencer *et al.*^{50,51} han señalado que se produce un cese en la expresión de genes para los receptores de progesterona y estrógeno, así como de aquellos que intervienen en la respuesta inmune, con el fin de que se produzca el RMP. Precisamente, la expresión de determinados genes relacionados con la receptividad uterina y la implantación, están afectados por la presencia de interferones tipo I y/o tipo II^{49,51}. En ovinos, el IFNT es producido por las células mononucleares del trofoectodermo entre los días 10 y 21 de gestación, alcanzando la máxima producción entre los días 14 y 16^{18,26}. Dicha proteína participa activamente en el RMP bloqueando los mecanismos luteolíticos⁴⁶; de manera específica, inhibe la transcripción de receptores para estrógeno y por lo tanto la expresión de genes para los receptores de oxitocina, que son dependientes de los estrógenos del epitelio luminal uterino y de las glándulas superficiales endometriales. A partir de esta acción se bloquea la liberación

de los pulsos luteolíticos de PGF2 α , que son inducidos por la oxitocina^{2,46}. Para lograr la implantación, es necesario además, evitar la expresión de receptores para progesterona en el epitelio luminal y glandular endometrial, lo que ocurre en ovinos entre los días 12 y 13 de gestación, momento en que se inicia el proceso de la implantación⁵⁰. A nivel de las células estromales o miometriales no se produce pérdida de expresión de receptores de progesterona, por lo cual esta hormona unida a su receptor incrementa la producción de progestamedinas, tales como factores de crecimiento fibroblásticos 7 y 10 y el factor de crecimiento de hepatocitos. Dichos factores actúan en los receptores del epitelio uterino y en el trofoectodermo, regulando la expresión de genes estimulados por IFNT^{11,12,47,49}. De esta manera, el epitelio luminal uterino y el epitelio glandular superficial, estimulan eventos celulares tales como angiogénesis⁴⁴, transporte de glucosa^{22,44}, así como la migración y adhesión de células del trofoectodermo^{19,45}. Simultáneamente, se disminuye la expresión de los genes que impiden la adhesión del concepto al endometrio, con lo cual se inicia el contacto del trofoectodermo con la pared uterina^{47,49}.

A su vez, se presentan componentes con propiedades anti adhesivas, como las mucinas provenientes del glucocalix del epitelio uterino, que inhiben la adhesión. Entre ellas cabe mencionar específicamente a la mucina MUC1, que se encuentra en la superficie apical del epitelio uterino, y es considerada como una barrera para la implantación. Su concentración se reduce considerablemente durante el período preimplantacional en los ovinos, como consecuencia de la activación de las proteasas y de la pérdida de receptores para la progesterona en el epitelio uterino⁵.

Bloqueados los mecanismos que desencadenan la luteólisis, la gestación temprana puede proseguir dependiendo de los factores que se relacionan con la propia conformación genética del embrión; así como por el aporte materno de sustancias que aseguren el desarrollo post implantacional.

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA GONADOTROFINA CORIÓNICA HUMANA Y SU EFECTO SOBRE LOS PARÁMETROS REPRODUCTIVOS

La gonadotropina coriónica humana es una hormona glicoproteica que forma parte de un grupo de varias moléculas biológicamente activas y ha sido tema de actuales revisiones por su importante rol en la gestación humana^{13,20}. La forma regular o clásica de la hCG es producida por el sincitiotrofoblasto, constituido por la fusión de células citotrofoblásticas vellosas³⁷, mientras que la forma hiperglicosilada proviene de las células citotrofoblásticas extravellosas invasivas²⁸ y es producida en el primer trimestre de gestación¹⁷. La forma clásica de la hCG también es producida normalmente por la glándula pituitaria, en forma simultánea con el pico de LH y durante el período de la menopausia en la mujer³.

La estructura peptídica de la hCG fue establecida por el grupo de trabajo de Bahl en el año 1975 y confirmada por Kobata y Takeuchi en 1999 (citados por Cole¹⁴). Es una glicoproteína compuesta de 244 aminoácidos, con un peso molecular de 36,7 kDa, del cual aproximadamente un 25% - 30% corresponde a oligosacáridos. Es heterodimérica, con una subunidad beta (β) que es exclusiva para la hCG, y con una subunidad alfa (α) idéntica a las hormonas LH, folículo-estimulante (FSH) y estimulante de la tiroides (TSH). La subunidad α tiene 92 aminoácidos mientras que la subunidad β contiene 145 aminoácidos.

La hCG utiliza el mismo receptor que la hormona LH, y si bien su acción biológica es similar a la de esta gonadotropina, en cultivos celulares se ha observado que la producción de cAMP es mayor cuando la hormona que interactúa con el receptor es la hCG; además, ambas hormonas utilizan diferentes caminos para la expresión de genes que determinan la acción de las mismas⁷. De manera específica, la hCG promueve durante las primeras semanas de gestación la producción de progesterona por parte del tejido luteal¹⁴. Por otra parte, la

forma hiperglicosilada de la hCG participa en el proceso de invasión de células del citotrofoblasto en el endometrio¹⁷ y se ha señalado que bajas concentraciones de esta isoforma se asocia con cuadros de preeclampsia en la mujer³⁰.

Dado que las pérdidas embrionarias están, en parte, relacionadas a la función luteal^{1,16}, y considerando las acciones atribuidas a la hCG, se han realizado estudios con el objetivo de evaluar su efecto sobre parámetros reproductivos. Esta hormona ha sido administrada con el objetivo de evaluar su acción sobre la producción de progesterona luteal, la formación de cuerpos lúteos accesorios, la función uterina y/o placentaria y sobre el crecimiento fetal. Se ha aplicado en animales cíclicos o en anestro, en ovejas y borregas y a su vez en diferentes momentos del ciclo estral.

Si bien los resultados han mostrado un efecto positivo sobre las variables evaluadas, existen algunas diferencias entre autores, ya sea por la categoría (oveja o borrega) o el estado fisiológico (con actividad cíclica estral o en anestro), así como por el momento de su aplicación (durante la fase luteal o al inicio del ciclo estral). En los Cuadros 1 y 2 se presenta en forma resumida la información bibliográfica de diversos autores.

Los resultados muestran que la acción de la hCG se manifiesta principalmente durante la fase luteal cuando se administra en animales adultos. El principal efecto observado es el incremento en la concentración plasmática de progesterona acompañado en varios casos, por un incremento en el número de cuerpos lúteos accesorios^{6,15,32,33,41,53}. No obstante, si bien se han observado incrementos significativos en algunos de los parámetros reproductivos (porcentaje de parición, prolificidad y/o características fetales, uterinas o placentarias)^{6,15,32,41}, existen casos donde los resultados sólo han mostrado una tendencia a diferir con el grupo control o directamente no han sido estadísticamente significativos^{33,38,41,53}. Cuando la administración de hCG se realizó en hembras en anestro, o al inicio del ciclo estral o durante la fase luteal en borregas cíclicas, los efectos han sido menos evidentes

Cuadro 1. Efectos de la administración de hCG sobre parámetros reproductivos en hembras ovinas cíclicas.

Hembra	Dosis/día de aplicación	Efectos observados	Autores
Aplicación de hCG durante la fase luteal			
Oveja	100 UI/ 11,5 d PS	↑ [P4], peso de CL, [E2], [IFNT], longitud del conceptus, tendencia a ↑ % de preñez.	Nephew <i>et al.</i> ⁴¹
	150 UI/ 12 d PS	↑ número de CL accesorios, peso de CL, tasa de no retorno, prolificidad, % de parición, peso del útero grávido, longitud fetal, peso fetal, peso de placenta.	Cam y Kuran ⁶
	200 UI/ 12 d PS	↑ número de CL accesorios, tendencia a ↑ % de parición, y prolificidad.	Khan <i>et al.</i> ³³
	200 UI/ 12 d PS	↑ [P4], peso de CL, [E2], tamaño saco amniótico, longitud fetal, peso fetal, número de placentomas.	Khan <i>et al.</i> ³²
	200 UI /4, 7 y 10 d PS	↑ [P4], número de CL accesorios, tendencia a ↑ prolificidad.	Lankford <i>et al.</i> ³⁸
	100 UI/ 4, 7, 10 y 13 d PS	↑ [P4], no ↑ % de preñez ni de prolificidad.	Yates <i>et al.</i> ⁵³
	600 UI/4 d PS	↑ [P4], número de CL accesorios, factores angiogénicos en endometrio materno y membranas extraembrionarias.	Coleson <i>et al.</i> ¹⁵
Borrega	200 UI/12 d PS	↑ [P4], saco amniótico, número de carúnculas, tendencia en ↑ del número de CL accesorios, no ↑ en % de preñez.	Khan <i>et al.</i> ³²
	200 UI/12 d PS	No ↑ en número de CL accesorios, % de parición, ni prolificidad.	Khan <i>et al.</i> ³³
Administración al principio del ciclo estral			
Oveja	400 y 800 UI/ día del estro	↑ número de CL y % de parición.	Killeen y Moore ³⁴
	500 UI/día del servicio	No ↑ prolificidad ni fertilidad, tendencia ↑ fertilidad en rebaños con baja performance reproductiva.	Gómez Brunet <i>et al.</i> ²³
	150 UI/día del servicio	No ↑ fertilidad ni en % de preñez.	Catalano <i>et al.</i> ⁸
Borrega	150 UI/día del servicio	No ↑ [P4], número de corderos nacidos, desarrollo placenta ni longitud fetal.	Khan <i>et al.</i> ³¹

Referencias: PS: post-servicio; ↑: aumento; [P4]: concentración plasmática de progesterona; %: porcentaje; CL: cuerpo lúteo; [E2]: concentración plasmática de estradiol; [IFNT]: concentración de interferón tau obtenida a partir del líquido del lavado uterino.

Cuadro 2. Efectos de la administración de hCG sobre parámetros reproductivos en hembras ovinas en anestro con tratamiento de inducción de celos.

Hembra	Dosis/día de aplicación	Efectos observados	Autores
Aplicación de hCG durante la fase luteal			
Oveja	500 UI/12 d PS	↑ [P4], no ↑ prolificidad, % de preñez ni % de parición.	Ishida <i>et al.</i> ²⁹
	100 UI/3, 4 y 5 d PS o 300 UI/4 d PS	↑ [P4], no ↑ prolificidad, % de preñez ni % de parición.	Fukui <i>et al.</i> ²¹
	100 UI/ 11, 12 y 13 d PS	↑ [P4] y % de preñez en ovejas con 20-30 días posparto y en lactancia.	Kittok <i>et al.</i> ³⁶
Borrega	300 UI/13,5 d PTIC	↑ [P4] y área luteal.	Catalano <i>et al.</i> ⁹
	300 UI 12 d PS	↑ [P4], en % de borregas con múltiples ovulaciones y en longitud cráneo-caudal	Catalano <i>et al.</i> ¹⁰
Aplicación de hCG al principio del ciclo estral			
Oveja	500 UI/ 1 d PTIC	↑ duración de fase luteal.	Kinser <i>et al.</i> ³⁵
	150 UI/día del servicio	No ↑ % de preñez.	Catalano <i>et al.</i> ⁸
	500 UI/día del servicio	No ↑ [P4], fertilidad ni prolificidad, tendencia ↑ fertilidad en rebaños con baja performance reproductiva.	Gómez Brunet <i>et al.</i> ²³
Borrega	300 UI/13,5 d PTIC	No ↑ [P4], área luteal ni % de ovulaciones.	Catalano <i>et al.</i> ⁹

Referencias: PS: post-servicio; PTIC: post-tratamiento de inducción de celos; ↑: aumento; [P4]: concentración plasmática de progesterona; %: porcentaje.

en relación a los parámetros reproductivos. Sin embargo se evidenció su actividad sobre la función luteal (ya sea por un incremento en la concentración plasmática de progesterona, una mayor área luteal y/o una mayor duración de la fase luteal)^{9,10,21,29,32,36}. Sobre la base de las investigaciones realizadas, el efecto de la hCG

podría evidenciarse principalmente en aquellos animales en condiciones fisiológicas adversas para mantener la gestación; es así que se ha observado que la administración de hCG, incrementa la fertilidad en ovejas a los 20 a 30 días posparto y durante la lactancia³⁶, mejora la respuesta reproductiva en rebaños caracterizados por su

baja fertilidad²³, y en borregas prepúberes, con tratamientos de inducción de celos, incrementa la concentración plasmática de progesterona, el porcentaje de hembras con ovulaciones múltiples y la longitud cráneo-caudal¹⁰. Por otro lado, el menor efecto de la hCG que se evidencia sobre parámetros reproductivos en hembras en anestro estacional, que recibieron tratamiento de inducción de celos, es probable que se deba a que en dicho tratamiento incluyeron eCG. Se ha señalado que el uso de esta hormona en los tratamientos de control del ciclo estral estimula el crecimiento folicular, acorta el periodo entre el fin del tratamiento y la ovulación e incrementa la producción de progesterona^{27,39}, lo cual favorece el mantenimiento de la gestación y/o el crecimiento del concepto^{38,50}.

CONCLUSIÓN

Así como la regresión luteal es un fenómeno necesario para lograr una actividad ovárica cíclica normal que permita el desarrollo de un nuevo folículo ovulatorio, el mantenimiento del cuerpo lúteo mediante factores antiluteolíticos es necesario para el establecimiento de la preñez. El conocimiento de los eventos fisiológicos reproductivos es fundamental para establecer los posibles tratamientos hormonales relacionados directamente con la funcionalidad del cuerpo lúteo.

Los resultados presentados sugieren que la hCG es una hormona cuya función es estimular la ovulación y la secreción de progesterona y puede ser aplicada en ovinos que se encuentran en condiciones adversas para mantener una correcta función del cuerpo lúteo o para incrementar la actividad de síntesis de progesterona. La utilización de hCG se ha propuesto como una posible herramienta que permite estimular la producción de progesterona en pos de mantener la gestación y/o estimular el crecimiento del concepto ovino, no obstante futuros trabajos deberán evaluar los tratamientos más eficientes según las características de cada sistema productivo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ashworth, C.; Sales, D.; Wilmut, I. Evidence of an association between the survival of embryo and the periovulatory plasma progesterone concentration in the ewes. *J Reprod Fertil.* 1989; 87: 23-32.
2. Bazer, F.; Wu, G.; Spenser, T.; Johnson, G.; Burghardt, R.; Bayless, K. Novel pathways for implantation and establishment and maintenance of pregnancy in mammals. *Mol Hum Reprod.* 2010; 16: 135-152.
3. Birken, S.; Maydelman, Y.; Gawinowicz, M.; Pound, A.; Liu, Y.; Hartree A. Isolation and characterization of human pituitary chorionic gonadotrophin. *Endocrinology.* 1996; 137: 1402-1411.
4. Bobowiec, R.; Kosior-Korzecka, U.; Patkowski, K.; Gruszecki, T.; Tusińska, E. Reproductive performance of PLS and BCP ewes exposed to hCG at the follicular phase of the estrous cycle. *Med Weter.* 2012; 68: 226-230. [Online] <http://www.medycynawet.edu.pl/images/stories/pdf/pdf2012/042012/201204226230.pdf>.
5. Burghardt, R.; Burghardt, J.; Taylor, J.; Reeder, A.; Nguen, B.; Spencer, T.; Bayless, K.; Johnson, G. Enhanced focal adhesion assembly reflects increased mechanosensation and mechanotransduction at maternal-conceptus interface and uterine wall during ovine pregnancy. *Reproduction.* 2009; 137: 567-582.
6. Cam, M.; Kuran, M. Effects of a single injection of hCG or GnRH agonist on day 12 post mating on fetal growth and reproductive performance of sheep. *Anim Reprod Sci.* 2004; 80: 81-90.
7. Casarini, L.; Lispi, M.; Longobardi, S.; Milosa, F.; La Marca, A.; Tagliasacchi, D.; Pignatti, E.; Simoni, M. LH and hCG action on the same receptor results in quantitatively and qualitatively different intracellular signalling. *PLoS ONE.* 2012; 7: e46682. doi:10.1371/journal.pone.0046682.
8. Catalano, R.; González, C.; Teruel, M.; Cabodevila, J.; Callejas S. Efecto de la gonadotropina coriónica humana administrada a ovejas al momento del servicio sobre la respuesta reproductiva. *FAVE Secc Cienc Vet Rev Veterinaria.* 2006; 17: 94-97.

9. Catalano, R.; Teruel, M.; Gonzalez, C.; Williams, S.; Videla Dorna, I.; Callejas, S. The effect of hCG treatment on follicular characteristics and luteal function in seasonally anestrous ewes lambs. *J Anim Vet Adv.* 2012; 11: 2091-2096.
10. Catalano, R.; Teruel, M.; González, C.; Williams, S.; Videla Dorna, I.; Callejas, S. Reproductive performance of ewe lambs in non-breeding season exposed to hCG at day 12 post mating. *Small Rum Res.* 2015; 124: 63-67.
11. Chen, C.; Spencer, T.; Bazer, F. Expression of hepatocyte growth factor and its receptor c-met in the ovine uterus. *Biol Reprod.* 2000a; 62: 1844-1850.
12. Chen, C.; Spencer, T.; Bazer, F. Fibroblast growth factor-10: a stromal mediator of epithelial function in the ovine uterus. *Biol Reprod.* 2000b; 63: 959-966.
13. Choi, J.; Smitz, J. Luteinizing hormone and human chorionic gonadotropin: origins of difference. *Mol Cell Endocrinol.* 2014; 383: 203-213.
14. Cole, L. New discoveries on the biology and detection of human chorionic gonadotropin. *Reprod Biol Endocrinol.* 2009; 7: 8 [Online] <http://www.rbej.com/content/7/1/8>
15. Coleson, M.; Sanchez, N.; Ashley, A.; Ross, T.; Ashley, R. hCG increases serum progesterone, number of corpora lutea, and angiogenic factors in pregnant sheep. *Reproduction.* 2015 Apr 10. pii: REP-14-0632. [Epub ahead of print]
16. Davies, M.; Beck, N. A comparison of plasma prolactin LH and progesterone concentration during estrous and early pregnancy in ewe lambs and ewes. *Anim Prod.* 1993; 57: 281-286.
17. Evans, J.; Salamonsen, L.; Menkhorst, E.; Dimitriadis E. Dynamic changes in hyperglycosylated human chorionic gonadotrophin throughout the first trimester of pregnancy and its role in early placentation. *Hum Reprod.* 2015; doi: 10.1093/humrep/dev016
18. Farin, C.; Imakawa, K.; Roberts, R. In situ localization of mRNA for the interferon ovine trophoblast protein-1 during early embryonic development of the sheep. *Mol. Endocrinol.* 1989; 3: 1099-1107.
19. Farmer, J.; Burghardt, R.; Jousan, F.; Hansen, P.; Bazer, F.; Spencer, T. Galectin 15 (LGALS15) functions in trophoctoderm migration and attachment. *J Fed Amer Soc Experim Biol.* 2008; 22: 548-560.
20. Fournier, T.; Guibourdenche, J.; Evain-Brion, D. Review: hCGs: Different sources of production, different glycoforms and functions. *Placenta.* 2015, 29: 560-565.
21. Fukui, Y.; Itagaki, R.; Ishida, N.; Okada, M. Effect of different hCG treatments on fertility of estrus-induced and artificially inseminated ewes during the non-breeding season. *J Reprod Dev.* 2001; 47: 189-195.
22. Gao, H.; Wu, G.; Spencer, T.; Johnson, G.; Bazer, F. Select nutrients in the ovine uterine lumen: II. Glucose transporters in the uterus and peri-implantation conceptuses. *Biol Reprod.* 2009; 80: 94-104.
23. Gómez-Brunet, A.; Santiago-Moreno, J.; Montoro, V.; Garde, J.; Pons, P.; González-Bulnes, A.; López-Sebastián, A. Reproductive performance and progesterone secretion in estrus-induced Manchega ewes treated with hCG at the time of AI. *Small Ruminant Res.* 2007; 71: 117-122.
24. Gordon, I. Controlled Reproduction in Sheep and Goats. *CAB, Slough*, 1977: 330-346.
25. Gray, C.; Burghardt, R.; Johnson, G.; Bazer, F.; Spencer T. Evidence that absence of endometrial gland secretions in uterine gland knockout ewes compromises conceptus survival and elongation. *Reproduction.* 2002; 124: 289-300.
26. Guillomot, M.; Michel, C.; Gaye, P.; Charlier, N.; Trojan, J.; Martal, J. Cellular localization of an embryonic interferon ovine trophoblastin and its mRNA in sheep embryos during early pregnancy. *Biol Cell.* 1990; 68: 205-211.
27. Hackett, A.; Hidiroglou, M. Effects of PMSG on progesterone levels in ewes treated with fluorogestone acetate or prostaglandin F2. *Anim Reprod Sci.* 1983; 6: 191-197.
28. Handschuh, K.; Guibourdenche, J.; Tsatsaris, V.; Guesnon, M.; Laurendeau, I.; Evain-Brion, D.; Fournier T. Human chorionic gonadotropin

- produced by the invasive trophoblast but not the villous trophoblast promotes cell invasion and is down-regulated by peroxisome proliferator-activated receptor- α . *Endocrinology*. 2007; 148: 5011-5019.
29. Ishida, N.; Okada, M.; Sebata, K.; Minato, M.; Fukui, Y. Effect of GnRH and hCG treatments for enhancing corpus luteum function to increase lambing rate of ewes artificially inseminated during the non-breeding season. *J Reprod Dev*. 1999; 45: 73-79.
 30. Keikkala, E.; Vuorela, P.; Laivuori, H.; Romppanen, J.; Heinonen, S.; Stenman, U. First trimester hyperglycosylated human chorionic gonadotrophin in serum - a marker of early-onset preeclampsia. *Placenta*. 2013; 34: 1059-1065.
 31. Khan, T.; Hastie, P.; Beck, N.; Khalid, M. hCG treatment on day of mating improves embryo viability and fertility in ewe lambs. *Anim Reprod Sci*. 2003; 76: 81-89.
 32. Khan, T.; Beck, N.; Khalid, M. The effects of GnRH analogue (buserelin) or hCG (Chorulon) on day 12 of pregnancy on ovarian function plasma hormone concentrations conceptus growth and placentation in ewes and ewe lambs. *Anim Reprod Sci*. 2007; 102: 247-257.
 33. Khan, T.; Beck, N.; Khalid, M. The effect of hCG treatment on day 12 post-mating on ovarian function and reproductive performance of ewes and ewe lambs. *Anim Reprod Sci*. 2009; 116: 162-168.
 34. Killeen, I.; Moore, N. The effect of pregnant mare serum gonadotrophin and human chorionic gonadotrophin on ovulation and on fertility in the ewe. *Aust J Agr Res*. 1970; 2: 807-814.
 35. Kinser, A.; Gibson, M.; Vincent, D.; Scheffrahn, N.; Kesler, D. Ovarian responses of seasonally anestrous ewes administered progesterone, PMSG, hCG and (or) GnRH. *Theriogenology*. 1983; 19: 449-460.
 36. Kittok, R.; Stellflug, J.; Lowry, S. Enhanced progesterone and pregnancy rate after gonadotropin administration in lactating ewes. *J Anim Sci*. 1983; 56: 652-655.
 37. Kovalevskaya, G.; Genbacev, O.; Fisher, S.; Cacere, E.; O'Connor, J. Trophoblast origin of hCG isoforms: cytotrophoblasts are the primary source of choriocarcinoma-like hCG. *Mol Cell Endocrinol*. 2002; 194: 147-155.
 38. Lankford, L.; Yates, D.; Halalsheh, R.; Black, P.; Hallford, D.; Ross, T. Effects of human chorionic gonadotropin on serum progesterone concentrations, embryonic survival, and lambing rates in ewes. *Proc West Sect Am Soc Anim Sci*. 2010; 61: 153-157.
 39. Liu, X.; Dai, Q.; Hart, E.; Barrett, D.; Rawlings, N.; Pierson, R.; Bartlewski, P. Ultrasonographic characteristics of ovulatory follicles and associated endocrine changes in cyclic ewes treated with medroxyprogesterone acetate (MAP)-releasing intravaginal sponges and equine chorionic gonadotropin (eCG). *Reprod Dom Anim*. 2007; 42: 393-401.
 40. Nancarrow, C. Embryonic mortality in the ewe and the doe. En Zavy, M.T., Geisert R.D. (eds.). *Embryonic Mortality in Domestic Species*. CRC Press, Boca Ratón, FL, 1994: 79-97.
 41. Nephew, K.; Cárdenas, H.; McClure, K.; Ott, T.; Bazer, F.; Pope, W. Effects of administration of human chorionic gonadotropin or progesterone before maternal recognition of pregnancy on blastocyst development and pregnancy in sheep. *J Anim Sci*. 1994; 72: 453-458.
 42. Quirke, J.; Adams, T.; Hanrahan, J. Artificial induction of puberty in ewe lambs. En Haresign W. (ed.). *Sheep Production*. Butterworths, London, 1983: 409-430.
 43. Roberts, R.; Imakawa, K.; Niwano, Y.; Kazemi, M.; Malathy, P.; Hansen, T.; Glass, A.; Kronenberg, L. Interferon production by the preimplantation sheep embryo. *J Interferon Res*. 1989; 9: 175-187.
 44. Song, G.; Kim, J.; Bazer, F.; Spencer, T. Progesterone and interferon tau regulate hypoxia-inducible factors (HIFs) in the endometrium of the ovine uterus. *Endocrinology*. 2008a; 149: 1926-1934.
 45. Song, G.; Satterfield, M.; Kim, J.; Bazer, F.; Spencer, T. Gastrin-releasing peptide (GRP) in the ovine uterus: regulation by interferon tau and progesterone. *Biol Reprod*. 2008b; 79: 376-386.
 46. Spencer, T.; Bazer, F. Ovine interferon tau suppresses transcription of the estrogen receptor and oxytocin

- receptor genes in the ovine endometrium. *Endocrinology*. 1996; 137: 1144-1147.
47. Spencer, T.; Bazer, F. Biology of progesterone action during pregnancy recognition and maintenance of pregnancy. *Front Biosci*. 2002; 7: 1879-1898.
48. Spencer, T.; Johnson, G.; Bazer, F.; Burghardt, R. Focus on Implantation: Implantation mechanisms: insights from the sheep. *Reproduction*. 2004; 128: 657-668.
49. Spencer, T.; Johnson, G.; Bazer, F.; Burghardt, R. Fetal-maternal interactions during the establishment of pregnancy in ruminants. *Soc Reprod Fertil*. 2007a; 64: 379-396.
50. Spencer, T.; Johnson, G.; Bazer, F.; Burghardt, R.; Palmarini, M. Pregnancy recognition and conceptus implantation in domestic ruminants: roles of progesterone interferons and endogenous retroviruses. *Reprod Fertil Develop*. 2007b; 19: 65-78.
51. Spencer, T.; Sandra, O.; Wolf, E. Genes involved in conceptus-endometrial interactions in ruminants: insights from reductionism and thoughts on holistic approaches. *Reproduction*. 2008; 135: 165-179.
52. Wilmot, I.; Sales, D.; Ashworth, C. Maternal and embryonic factors associated with prenatal loss in mammals. *J Reprod Fertil*. 1986; 76: 851-864.
53. Yates, D.; Yates, L.; Otis, A.; Warner, C.; Halalsheh, R.; Hallford, D.; Ross, T. Effects of human chorionic gonadotropin on serum progesterone concentration during the first weeks after mating, components of pre-implantation complete blood counts, and number of offspring at parturition in ewes. *Sheep & Goat Res J*. 2010; 25: 9-15.