



# **TECNIGRASAS**

**SUPLEMENTOS Y NUTRIENTES**

## **LOS ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS Y SUS EFECTOS SOBRE EL OVOCITO Y CALIDAD EMBRIONARIA**

**Elaborado por: Rolando Hernández**  
**Colombia, Mayo 2018**

## LOS ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS Y SUS EFECTOS SOBRE EL OVOCITO Y LA CALIDAD EMBRIONARIA

**Rolando Hernández**  
**Asesor Técnico Tecnigrasas SAS.**  
**Mayo, 2018**

### **Introducción.**

Los ácidos grasos (AG) son nutrientes claves para múltiples funciones biológicas en el organismo. Desde el almacén de energía, componente de membranas celulares, precursores de sustancias metabólicamente activas, y hasta activación de genes o factores de transcripción, son propiedades descritas para estos compuestos. A nivel del ovocito, los AG forman parte importante de la membrana celular (en forma de fosfolípidos) y del fluido folicular, lo que les permite afectar notablemente el microambiente del ovocito y podrían jugar un papel fundamental en la fertilidad y en técnicas de reproducción asistida como la fertilización *in vitro* (FIV). Utilizar ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) protegidos de la acción ruminal (jabones cálcicos), es una manera de garantizar el aporte en la dieta de rumiantes de los ácidos grasos esenciales (Omega 6 y 3) y de incrementar su disponibilidad a nivel de los tejidos, permitiendo ejercer su acción metabólica llamada en algunos casos “nutracéutica”. Para el caso de los bovinos, existe una creciente y variada información referente al uso de AGPI y su efecto sobre el ovocito, la FIV y la calidad embrionaria en vacas, por lo que el objetivo del presente documento es revisar de manera breve trabajos relacionados con el efecto de los AGPI sobre estos aspectos en rumiantes con especial énfasis en ovocitos bovinos.

### **Los ácidos grasos y la composición del Ovocito.**

Los AG son moléculas fundamentales en la estructura de un lípido, son cadenas de carbono hidrogenadas que terminan en un grupo ácido o grupo carboxilo en un extremo y un grupo metilo en el otro (Jenkins, 2004). La longitud de las cadenas de los AG va de 2 átomos de carbono a 24 o más. Es común nombrarlos según la cantidad de átomos presentes y la presencia de dobles enlaces. Esto último, permite clasificar a los ácidos grasos en saturados o insaturados. Los ácidos grasos linoleico y linolénico (Omega 6 y Omega 3, respectivamente) no pueden ser sintetizados por los tejidos animales, por lo tanto deben ser incorporados en la dieta (Jenkins, 2004). Estos dos AG son conocidos como esenciales en la alimentación animal, debido a que son requeridos para múltiples procesos metabólicos. A nivel celular, los ácidos grasos pueden ser incorporados en la membrana celular o ser incorporados dentro de gotas lipídicas sintetizadas en el citoplasma (Aardema, 2014). Estas gotas de grasa se originan de los ácidos grasos extracelulares (provenientes de la circulación sanguínea) o de los sintetizados “*de novo*”. En el caso del ovocito de la vaca, el origen de los

ácidos grasos permanece incierto, aunque cada día existen más evidencias que permiten aseverar que esta célula es capaz de incorporar AG provenientes de su alrededor (Aardema, 2014). La composición de los AG almacenados en el ovocito, ha sido correlacionada con el desarrollo de las capacidades de esta célula (Kim *et al.*, 2001). El ovocito y las capas de células del *cumulus* juntos se conocen como el complejo cúmulo-ovocito (CCO, Aardema, 2014). Kim *et al.* (2001) reportan que ovocitos bovinos provenientes del CCO clasificados como A (de alta calidad) o B (moderada o baja calidad), todos tenían el ácido palmítico (C16:0) como el AG más abundante; sin embargo, el segundo más abundante en los ovocitos clasificados A fue el ácido oleico (C18:1) a diferencia del ácido esteárico (C18:0) en los tipo B. Estos hallazgos podrían indicar que alterando el medio ambiente al que está expuesto el ovocito (a ciertos AG), se promueve una capacidad de selección por ciertos AG o se activan determinadas rutas metabólicas que pueden influir en la maduración y el desarrollo de las competencias necesarias del ovocito para la fertilización. Asimismo, los AGPI podrían tener efectos diferenciales sobre la calidad del ovocito, por lo que su incorporación al medio folicular sería una manera de mejorar la fertilidad de los rebaños.

### **Los AG y el fluido folicular.**

El medio que rodea el ovocito es el fluido folicular, este tiene un impacto notable en la cantidad de AG libres disponibles para el gameto femenino, la cual se modifica dependiendo del estado de desarrollo folicular, ya que esto conduce a un arreglo de los componentes del folículo que puede afectar la manera como los factores provenientes de la sangre son transportados hasta el ovocito (Aardema, 2014). Los AG, que son insolubles en agua, viajan en la circulación sanguínea de tres formas: formando complejos con la albumina, esterificados como triacilgliceroles (TAG) o como ésteres de colesterol dentro de las lipoproteínas (quilomicrones, VLDL, HDL, etc.) (Jenkins, 2004). Desde la sangre, los AG entran al fluido folicular atravesando varias capas de células que conforman la barrera hemofolicular (Aardema, 2014). Las células de la teca, que conforman la capa celular más externa desde el estadio de folículo primordial en adelante, expresan en su superficie el transportador de ácidos grasos CD36, la proteína de unión a los ácidos grasos H (H-FABP) y la enzima lipoprotein-lipasa (LPL) lo que permite el paso de los ácidos grasos libres y de los AG esterificados en las lipoproteínas hacia el fluido folicular (Iseki *et al.*, 1995; Camps *et al.*, 1990).

Una vez en el fluido folicular, es posible que el ovocito tome estos AG y los incorpore en su interior para formar parte de la membrana celular o sean utilizados para formar las gotas lipídicas previamente descritas. La HDL es la lipoproteína más abundante en el fluido folicular de los bovinos (Williams y Stanko, 1999), y es la lipoproteína más potente para estimular la producción de progesterona (células de la granulosa y la teca) y androstenediona (células de la teca) (Williams y Stanko, 1999). Sin embargo, se ha reportado un ligero incremento en el fluido folicular de otras lipoproteínas en algunos folículos cerca del momento de la ovulación (VLDL, LDL), pero se piensa que es debido a una mayor

permeabilidad vascular del folículo (Aardema, 2014). El fluido folicular también contiene ácidos grasos libres (Jungheim *et al.*, 2011), con los cuales las células del cumulus tienen contacto directo, siendo la única barrera existente entre el fluido folicular y el ovocito. La expresión del CD36 en este tipo celular indica que son capaces de incorporar los AG en su interior proveniente de su alrededor (Aardema *et al.*, 2013).

### **Metabolismo lipídico en el ovocito y el embrión en los primeros estadios.**

Luego que el ácido graso está en el interior celular, es activado con la unión de un grupo CoA- en el extremo carboxilo terminal del AG (Mayes, 2005). Después de la activación, puede ser degradado a nivel mitocondrial a través del proceso conocido como  $\beta$ -oxidación, para obtener energía química a través de la fosforilación oxidativa en la cadena de transporte de electrones. Sin embargo, el destino de los AG puede ser diferente dependiendo si son esenciales o de su grado de saturación (Staples, 2014). Los AGPI pueden ser incorporados en fosfolípidos, los cuales forman parte de la membrana celular y funcionan como precursores de sustancias metabólicamente activas como los eicosanoides (Prostaglandinas, leucotrienos, etc.), regulando la actividad celular y la permeabilidad de otras sustancias a la célula (Aardema, 2014).

La cantidad de gotas lipídicas en el interior del ovocito varía con la especie, siendo mayor para animales como los bovinos y los cerdos en comparación con roedores y humanos (Khandoker *et al.*, 1997). Se ha sugerido, que este mayor contenido en AG permite la sobrevivencia del embrión durante el periodo previo a la implantación, ya que proporcionan una reserva energética en embriones (porcinos y bovinos) que tardan más tiempo en fijarse al endometrio (Aardema, 2014). La activación de la lipasa sensible a hormona y la reducción de las cantidades de TAG durante la maduración del ovocito, la fertilización y el desarrollo embrionario temprano, indicaría que las gotas lipídicas almacenadas son utilizadas para generar energía durante estos procesos (Auclair *et al.*, 2013).

La carnitina palmitoil-transferasa (CPT-I) funciona como un “servicio de transporte” que permite la incorporación del AG activado para su degradación dentro de la mitocondria (Mayes, 2005). Cuando se inhibe el CPT-I en los ovocitos, la transferencia de ácidos grasos a la mitocondria para  $\beta$ -oxidación es limitada, reduciéndose la capacidad de convertirse en embriones (Ferguson and Leese, 2006; Dunning *et al.*, 2010). Otro hecho relacionado con el punto anterior, es la reorganización de las gotas lipídicas y las mitocondrias hacia la periferia del ovocito, lo cual ocurre durante el proceso de maduración (también conocido como maduración citoplasmática del ovocito) maximizando la difusión citosólica del oxígeno y dióxido de carbono necesarios para la alta actividad respiratoria durante dicho proceso (Ferguson and Leese, 2006). Estimular la  $\beta$ -oxidación por exposición a la carnitina, se ha relacionado con el aumento del desarrollo del potencial de los ovocitos tratados y ha sido suficiente para mantener dicho potencial en ausencia de carbohidratos (Dunning *et al.*, 2010). Además de su uso energético en el ovocito y en el joven embrión, los AG son cruciales para la formación de los fosfolípidos en la membrana celular como se mencionó previamente.

Esto es particularmente importante, para el rápido clivaje (división) en las primeras etapas embrionarias donde se produce un aumento estimado del área de la membrana celular de 33 y 74% desde la etapa de ovocito a las etapas de 2 y 4 células, respectivamente (Aardema, 2014). El tipo de ácido graso que está disponible en el ovocito determina su destino principal (Staples, 2014), así, los AGPI son preferentemente (mas no exclusivamente) utilizados en la síntesis de fosfolípidos debido a las propiedades de permeabilidad que debe poseer la membrana celular, siendo los AG de las familias Omega 6 y 3 los más utilizados para este fin. En este sentido, McEvoy *et al.* (2000) señalan que el contenido de AG de ovocitos inmaduros en vacas se ha estimado en 63  $\mu\text{g}$  por ovocito, de los cuales los fosfolípidos representan un 25% del total. Mientras que el contenido de ácidos grasos saturados es menor al 30% del total.

No obstante, se han reportado cambios en el perfil de los ácidos grasos del ovocito y del embrión en etapas tempranas (Fouladi-Nashta *et al.*, 2007), estos cambios en el perfil de ácidos grasos de líquido folicular y ovocitos pueden estar relacionados con la temperatura ambiente, pero también pueden reflejar cambios estacionales en los ingredientes de la dieta. Sin embargo, poca información existe sobre los cambios en el perfil de ácidos grasos en la dieta de rumiantes y su efecto sobre el ovocito, la fertilización y la calidad embrionaria, debido principalmente a las limitaciones para suministrar AGPI a nivel metabólico ( por la biohidrogenación ruminal). Con el surgimiento de las grasas inertes o de sobrepaso en épocas recientes se ha incrementado el aporte de los AGPI, particularmente de la familia Omega 6 y 3, permitiendo modificar el perfil lipídico de los tejidos y evaluar la respuesta a este manejo nutricional.

### **Efectos diferenciales de los AG (Saturados vs Insaturados).**

Previo a la revisión de estudios con efectos diferenciales en el tipo de AG, es importante mencionar los efectos del incremento en la dieta de las grasas y sus efectos sobre la calidad del ovocito y su desarrollo luego de la fertilización. En este sentido, Fouladi-Nashta *et al.* (2007) evaluaron el impacto de dos niveles de inclusión, en la dieta, de grasa inerte sobre la actividad ovárica (folicular), la calidad del ovocito, su tasa de desarrollo después de la maduración y FIV. Las vacas del grupo bajo en grasa (LF) recibieron 200 g/d de grasa sobrepasante, mientras que las vacas del grupo alto en grasa (HF) consumieron 800 g/d de la misma grasa. Los autores reportan que el grupo HF presentó un menor número de folículos pequeños y medianos, no existiendo diferencia en la calidad del ovocito ni en la tasa de clivaje entre tratamientos. Sin embargo, en las vacas HF se encontró una mejora significativa en la producción de blastocitos a partir de los ovocitos madurados y de embriones clivados<sup>1</sup>. Además, los blastocitos del HF presentaron mayor contenido total de la masa celular interna y de las células del trofoectodermo<sup>2</sup> (capa de células que recubren el blastocele), por lo que

---

<sup>1</sup> **Embrión clivado:** Un ovocito fertilizado que ha sufrido divisiones celulares

<sup>2</sup> Es una capa de células epiteliales que engloba una cavidad llena de fluido que se denomina blastocele, durante la fase de blastocisto del embrión

los autores concluyen que el alto contenido de grasa en la dieta mejoró la calidad embrionaria. Una mejor calidad embrionaria influye significativamente en la producción del interferón *tau* (IFN- $\tau$ ) por las células bovinas del trofooctodermo, que es la señal primaria necesaria para el reconocimiento materno de la gestación y el establecimiento de la preñez (Hernández-Ledezma *et al.*, 1993). Luego de la FIV el % de blastocitos<sup>3</sup> desarrollados fue mayor, así como, el de blastocitos a partir de embriones escindidos en el grupo HF. Los resultados de este estudio se muestran en el cuadro 1.

**Cuadro 1. Efecto del nivel de grasa en la dieta sobre la calidad embrionaria. Adaptado de Fouladi-Nashta *et al.* (2007).**

Variable	Nivel de grasa en la dieta	
	LF	HF
Total de células	132.5 $\pm$ 7.2	150.5* $\pm$ 7.9
MCI	33.8 $\pm$ 2.3	36.4* $\pm$ 1.6
Trofooctodermo	98.6 $\pm$ 5.5	114.0* $\pm$ 6.6
% Blastocitos/FIV	19.4 $\pm$ 1.8	27.4* $\pm$ 2.2
%Blastocitos/EC	29.1 $\pm$ 2.5	38.0* $\pm$ 2.8

MCI: masa celular interna. EC: Embrión clivado \* = P < 0,05

Un aspecto importante a resaltar en el estudio de Fouladi-Nashta *et al.* (2007), es que no se encontraron diferencias en los niveles plasmáticos de la hormona del crecimiento, insulina, IGF-I, leptina y progesterona entre ambos grupos. Pero en el grupo de vacas LF se reportaron mayores niveles de ácidos grasos no esterificados (AGNE), los cuales tienen su origen en el tejido adiposo, producto de la movilización que se presenta particularmente al inicio de la lactación. Lo anterior sugiere un efecto directo del incremento en el aporte lipídico de la ración sobre la calidad embrionaria, resaltando que el origen de los ácidos grasos que llegan al ovocito (dieta [lipoproteínas] vs tejido adiposo [AGNE]) podría tener un impacto importante en la calidad embrionaria. Sin embargo, en un trabajo reciente, Matoba *et al.* (2012) no encontraron efecto de la elevación en los niveles sanguíneos de los AGNE, ni de los cuerpos cetónicos (BHBA) durante la lactancia temprana (primeros 42 d) sobre el desarrollo del ovocito fecundado, evaluado a través de la calidad morfológica y el desarrollo embrionario después de la FIV, por lo que más investigación se requiere en el área del estrés metabólico durante la lactancia temprana y su impacto en la calidad del ovocito y su desempeño luego de la concepción.

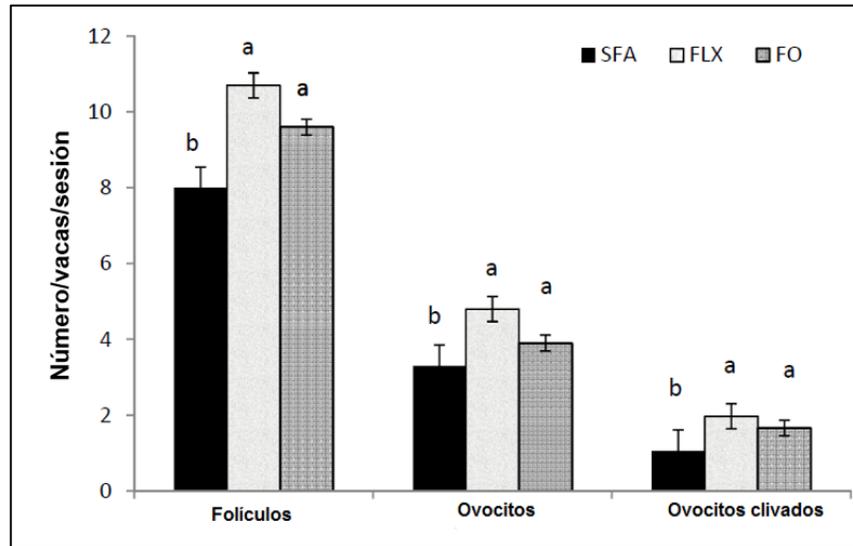
En cuanto al efecto diferencial de los ácidos grasos, Mu *et al.* (2001) señalan que cuando células de la teca y de la granulosa fueron cultivadas *in vitro* con niveles elevados de AG libres saturados (que son los predominantes en la sangre bovina) se redujo la proliferación celular y la apoptosis<sup>4</sup> se incrementó. Estos autores mencionan que la tasa de sobrevivencia

<sup>3</sup> Fase del desarrollo embrionario de los mamíferos

<sup>4</sup> Apoptosis: muerte celular programada

de las células de la granulosa se ubicó por debajo del 20%, luego de cultivar dichas células (3 d) con un medio que contenía 300  $\mu\text{M}$  de C16:0. En mujeres obesas, el C16:0 produce un incremento en los marcadores moleculares para estrés del receptor de estrógenos, por reducción en la síntesis de una proteína crucial de la matriz extracelular conocida como pentraxina 3 (Aardema, 2014), esto se traduce en células del cumulus de menor calidad, incrementando su apoptosis. Lo anterior sugiere que la elevada concentración plasmática de AG saturados pueden ser perjudiciales para las células de la teca, de la granulosa y del cumulus, comprometiendo la calidad del ovocito y afectando negativamente el desarrollo embrionario. Por otro lado, la sobrevivencia de las células de la granulosa fue mucho mayor cuando fueron expuestas a los ácidos grasos insaturados C18:1 ( $\omega$ -9) y linoleico (C18:2,  $\omega$ -6) que con ácidos grasos saturados (Mu *et al.*, 2001). La capacidad tóxica de los AG saturados, ha sido atribuida al potencial de estimular la síntesis de sustancias de naturaleza lipídica pro-apoptóticas, que los AG insaturados no estimulan. La cascada de eventos inducidos por los AG saturados y que desencadena la apoptosis, puede variar según el tipo celular (Aardema, 2014) pero incluye: síntesis *de novo* de ceramidas, inducción de especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno (ROS y RNS), reducción en la expresión del Bcl-2 (un inhibidor de la apoptosis) entre otras.

Moallem *et al.* (2013) realizaron un estudio con la finalidad de evaluar el efecto de incorporar en la dieta varios tipos de AG ( $\omega$ -3 vs saturados), sobre la FIV. La suplementación con la grasa se realizó pre y postparto (30 antes y 100 d después del parto) con tres grupos de vacas: 1) uso de grasa saturada encapsulada (SFA, 240 y 560 g/d, pre y postparto, respectivamente); 2) Uso de grasa insaturada del tipo  $\omega$ -3 (ácido linolénico, C18:3) proveniente de aceite de linaza (FLX, 300 y 700 g/d, pre y postparto) y 3) grasa insaturada del tipo  $\omega$ -3 (ácidos eicosapentaenoico [EPA] y docosahexaenoico [DHA], C20:5 y C22:6, respectivamente) proveniente de aceite de pescado (FO, 300 y 700 g/d, pre y postparto). Aunque el consumo de las fuentes insaturadas era mayor, la proporción de grasa en la dieta saturada era más alta que en las fuentes de  $\omega$ -3 (99 vs 80%), por lo que las cantidades suministradas garantizaron diferencias solo en la composición de ácidos grasos y no en el contenido de energía (dietas isocalóricas). Los autores reportan un incremento en el fluido folicular del contenido de ácidos grasos del tipo  $\omega$ -3 en FLX y FO, no así en el grupo SFA. Asimismo, el número de folículos recuperados por aspiración folicular (20 sesiones de aspiración, iniciando el d 60 de lactación) fue menor en SFA que en FLX y FO. Además, el porcentaje de ovocitos que se desarrollaron a blastocitos luego de la FIV, tendió a ser mayor en los grupos que aportaban AG  $\omega$ -3 en comparación a SFA. Los resultados de este ensayo se muestran en la figura 1.



**Figura 1. Efecto de la suplementación con grasa sobre la recuperación de ovocitos y el desempeño luego de la FIV. Adaptado de Moallem *et al.* (2013). Diferentes letras representan diferencias significativas. SFA: grasa saturada, FLX: aceite de linaza, FO: aceite de pescado.**

Sin embargo, Petit *et al.* (2008) reportan una reducción en la calidad de los embriones de vacas lactantes, al ser suplementadas con semillas enteras de linaza ( $\omega$ -3) al compararla con una fuente saturada (jabón cálcico de aceite de palma), sin embargo al trasplantar dichos embriones en novillas, no se encontró diferencia en la tasa de preñez de las receptoras. Es probable, que las diferencias entre dichas investigaciones sea por la fuente utilizada (aceite vs semillas enteras), así como las cantidades y el momento de suministro (pre y postparto vs postparto). Pero no solo debe ser considerado el tipo AGPI sino su relación ( $\omega$ -6/ $\omega$ -3) en la dieta.

Zachut *et al.* (2010) indican que en dietas con relaciones bajas de estos AGPI, se obtiene una mayor cantidad de folículos recuperados por aspiración folicular, así como de la tasa de clivaje de estos folículos en comparación con el control. Sin embargo, no se reportan diferencias cuando se usan relaciones más altas, a pesar de obtener una mayor concentración de estradiol en el fluido folicular de los animales con altas relaciones. Ribeiro *et al.* (2016), señalaron por primera vez la importancia de los lípidos en la leche uterina (histotrofo), estos autores resaltan la importancia de los derivados de los Omega 6 en el histotrofo, como el ácido araquidónico (C20:4,  $\omega$ -6) y como estos compuestos afectan positivamente el alargamiento del embrión durante la fase de preimplantación en vacas lecheras (Cuadro 2).

**Cuadro 2. Compuestos de origen lipídico presentes en el fluido uterino de vacas gestantes o no (Espectrofotometría de Masa-intensidad de los picos)**

Nombre del Compuesto	Fase fisiologica		
	No gestante	Embrión Ovoide (0,5-4 mm)	Embrion Filamentoso (20-60 mm)
9,12,13-TriHOME (derivado del C18:2, $\omega$ -6)	57.272	82.041	82.520
PGF2 $\alpha$ (derivado del C20:4, $\omega$ -6)	73.511	187.978	199.320
15-HETE (derivado del C20:4, $\omega$ -6)	40.371	259.696	337.866
Anandamida (derivado del C20:4, $\omega$ -6)	46.686	72.433	188.322

Ribeiro *et al.* (2016)

Modular el metabolismo lipídico uterino y la actividad de ciertos receptores nucleares en el embrión (receptor gamma de activación del proliferador de peroxisomas, PPAR) durante la preimplantación del mismo, puede realizarse optimizando el consumo de compuestos nutracéuticos como los ácidos grasos esenciales omega 6 y 3 (Ribeiro, 2018). Este manejo podría ser fundamental para la implantación embrionaria una vez ocurrida la concepción, siendo los derivados del ácido linoleico  $\omega$ -6 (como el ácido araquidónico) cruciales para la sobrevivencia embrionaria temprana y la implantación, a través de la mejora en las síntesis de las prostaglandinas por el concepto, o la activación de genes directos por parte de los ácidos grasos esenciales o sus derivados (Ribeiro, 2018).

### Conclusiones

Los ácidos grasos son nutrientes importantes que pueden afectar el desempeño del ovocito (su destino), su maduración y calidad, y por lo tanto la fertilidad. Entender los procesos mediante el cual los AG pueden afectar el gameto femenino, es fundamental para realizar las manipulaciones dietarias que garanticen un ovocito de mejor calidad. Los AGPI podrían tener efectos beneficiosos sobre el ovocito y mejorar la fertilidad de los mismos al utilizar biotecnologías como la FIV, la cual depende enormemente de un ovocito de calidad. Manejar la relación de los ácidos grasos esenciales  $\omega$ -6 y 3 pareciera el manejo alimenticio más

novedoso para afectar positivamente la maduración del ovocito, su maduración y el desarrollo embrionario temprano.

### **Bibliografía Consultada.**

1. Aardema H. 2014. Impact of free fatty acid composition on oocyte developmental competence in dairy cows. PhD Dissertation. Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University. Netherlands. Pp 159.
2. Aardema H, Lolicato F, van de Lest CH, Brouwers JF, Vaandrager AB, van Tol HT, Roelen BA, Vos PL, Helms JB, Gadella BM. 2013. Bovine cumulus cells protect maturing oocytes from increased fatty acid levels by massive intracellular lipid storage. *Biol Reprod*; 88:164.
3. Auclair S, Uzbekov R, Elis S, Sanchez L, Kireev I, Lardic L, Dalbies-Tran R, Uzbekova S. 2013. Absence of cumulus cells during in vitro maturation affects lipid metabolism in bovine oocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*; 304:E599-613.
4. Camps L, Gafvels M, Reina M, Wallin C, Vilaro S, Olivecrona T. 1990. Expression of lipoprotein lipase in ovaries of the guinea pig. *Biol Reprod*; 42:917-927.
5. Dunning KR, Cashman K, Russell DL, Thompson JG, Norman RJ, Robker RL. 2010. Beta-Oxidation Is Essential for Mouse Oocyte Developmental Competence and Early Embryo Development. *Biol Reprod*; 83 (6) 909-918.
6. Fouladi-Nashta AA, Gutierrez CG, Gong JG, Garnsworthy PC, Webb R. 2007. Impact of dietary fatty acids on oocyte quality and development in lactating dairy cows. *Biol Reprod*; 9-17.
7. Hernandez-Ledezma JJ, Mathialagan N, Villanueva C, Sikes JD, Roberts RM. 1993. Expression of bovine trophoblast interferons by in vitro-derived blastocysts is correlated with their morphological quality and stage of development. *Mol Reprod Dev*; 36:1-6.
8. Iseki S, Amano O, Fujii H, Kanda T, Ono T. 1995. Immunohistochemical localization of two types of fatty acid-binding proteins in rat ovaries during postnatal development and in immature rat ovaries treated with gonadotropins. *Anat Rec*; 241:235-243.
9. Jenkins T. 2004. Challenges of meeting cow demands for omega fatty acids. Florida Ruminant Nutrition Symposium. In: 15<sup>th</sup> Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium. Department of Animal Sciences. University of Florida, IFAS. Pp. 52-66.

10. Jungheim ES, Macones GA, Odem RR, Patterson BW, Lanzendorf SE, Ratts VS, Moley KH. 2011. Associations between free fatty acids, cumulus oocyte complex morphology and ovarian function during in vitro fertilization. *Fertil Steril*; 95:1970-1974.
11. Khandoker M, Tsujii H, Karasawa D. 1997. Fatty acid compositions of oocytes, follicular, oviductal and uterine fluids of pig and cow. *Anim Sci Technol*; 10:523-4.
12. Kim JY, Kinoshita M, Ohnishi M, Fukui Y. 2001. Lipid and fatty acid analysis of fresh and frozen-thawed mature and in vitro matured bovine oocytes. *Reproduction*; 122:131-138.
13. Marei W, Wathe D, Fouladi-Nashta A. 2010. Impact of linoleic acid on bovine oocyte maturation and embryo development. *Reproduction*; 139:979-988
14. Matoba S, O'hara L, Carter F, Kelly A, Fair T, Rizos D and Lonergan P. 2012. The association between metabolic parameters and oocyte quality early and late postpartum in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*; 95:1257-1266
15. Mayes P.A. 2005. Metabolismo de los ácidos grasos insaturados y de los eicosanoides. En: *Bioquímica de Harper*. 14<sup>va</sup> Ed, Editorial Manual Moderno, México, D.F. Pp. 279-288.
16. McEvoy TG, Coull GD, Broadbent PJ, Hutchinson JS, Speake BK. 2000. Fatty acid composition of lipids in immature cattle, pig and sheep oocytes with intact zona pellucida. *J Reprod Fertil*; 118:163-170.
17. Moallem U, Shafran A, Zachut M, Dekel I, Portnick Y, Arieli A. 2013 [Dietary  \$\alpha\$ -linolenic acid from flaxseed oil improved folliculogenesis and IVF performance in dairy cows, similar to eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids from fish oil.](#) *Reproduction*; 146(6):603-14.
18. Mu YM, Yanase T, Nishi Y, Tanaka A, Saito M, Jin CH, Mukasa C, Okabe T, Nomura M, Goto K, Nawata H. 2001. Saturated FFAs, palmitic acid and stearic acid, induce apoptosis in human granulosa cells. *Endocrinology*; 142:3590-3597.
19. Ribeiro E, Greco L, Bisinotto R, Lima F, Thatcher W and Santos J. 2016. Biology of preimplantation conceptus at the onset of elongation in dairy cows. *Biology of Reproduction*. 94(4):97, 1-18.
20. Ribeiro E. 2018. Lipids as regulators of conceptus development: Implications for metabolic regulation of reproduction in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 101:1-12

21. Staples C. 2014. The fatty acid forum: What are the key functions of essential fatty acid in bovine tissues? Virtus Nutrition. October 2014. IFAS Presentation. University of Florida.
22. Williams G.L. and R.L. Stanko. 1999. Dietary fats as reproductive nutraceuticals in beef cattle. Proceedings of the American Society of Animal Science. Pp. 12.
23. Zachut M, Dekel I, Lehrer H, Arieli A, Arav A, Livshitz L, Yakoby S, Moallem U. 2010. Effects of dietary fats differing in n-6:n-3 ratio fed to high-yielding dairy cows on fatty acid composition of ovarian compartments, follicular status, and oocyte quality.J Dairy Sci; 93(2):529-45.



**TECNIGRASAS**  
SUPLEMENTOS Y NUTRIENTES