

# Biología de la Reproducción

## El locus agutí del ratón influye sobre la longevidad de los individuos

### *The agouti locus influences longevity in mice*

Tarín JJ<sup>1</sup>, Pérez-Albalá S<sup>1</sup>, Gómez-Piquer V<sup>1</sup>, Hermenegildo C<sup>2</sup>, García-Pérez MA<sup>3</sup>, Cano A<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biología Animal, Facultad de Ciencias Biológicas, Universitat de València. <sup>2</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universitat de València.

<sup>3</sup>Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, Universitat de València.

#### **Resumen**

**Objetivos:** *Determinar el efecto del locus agutí sobre la longevidad y eficacia reproductiva de ratones híbridos de la segunda generación (F<sub>2</sub>) procedentes del cruce de ratones híbridos (C57BL/6Jlco X CBA/Jlco) de la primera generación (F<sub>1</sub>).*

**Métodos:** *Ratonas híbridas F<sub>1</sub> procedentes del cruce entre hembras negras de la generación parental (F<sub>0</sub>) C57BL/6Jlco, homocigóticas para el alelo mutante no-agutí, y machos agutíes F<sub>0</sub> CBA/Jlco, homocigóticos para el alelo salvaje agutí, de 9-12 semanas de edad fueron inseminadas artificialmente 13 horas ó 22 horas después de una inyección intraperitoneal de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) en fase de proestro. Los ratones F<sub>2</sub> nacidos se mantuvieron en condiciones estables de temperatura y fotoperiodo hasta su muerte natural. A las 28 semanas de edad, se permitió que una hembra F<sub>2</sub> de cada camada se aparease con un macho F<sub>1</sub> para analizar su eficacia reproductiva. En el mismo día de la muerte, se practicó la necropsia en la mayoría de animales.*

**Resultados:** *Los ratones vírgenes F<sub>2</sub> negros (tanto machos como hembras) exhibieron una mayor (P ≤ 0.05) esperanza de vida que los ratones vírgenes F<sub>2</sub> agutíes. No se evidenció ninguna relación entre el color del pelaje de los ratones vírgenes F<sub>2</sub> y su causa de muerte. El color de las ratonas reproductoras F<sub>2</sub> no ejerció ningún efecto significativo sobre el tamaño de camada en el parto y destete, mortalidad pre-destete, intervalo entre partos, número medio de partos por hembra y edad de la ratona en el último parto.*

**Conclusión:** *Los ratones vírgenes F<sub>2</sub> homocigóticos para el alelo mutante no-agutí exhiben una mayor esperanza de vida que los ratones homocigóticos o heterocigóticos para el alelo agutí salvaje. El genotipo del locus agutí, sin embargo, no afecta la eficacia reproductiva de las hembras F<sub>2</sub>.*

**Palabras clave:** Eficacia reproductiva. Inseminación artificial. Locus agutí. Longevidad. Segregación genética.

---

**Correspondencia:** Dr. Juan J. Tarín  
Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología  
Facultad de Medicina, Universidad de Valencia  
Avda. Blasco Ibañez 17  
46010 Valencia.  
E-mail: tarinjj@uv.es.

## Summary

*Purpose: To evaluate the effect of the agouti locus on longevity and reproductive fitness of second generation (F<sub>2</sub>) mice coming from the intercross of first generation (F<sub>1</sub>) hybrid (C57BL/6Jlco X CBA/Jlco) mice.*

*Methods: Hybrid F<sub>1</sub> female mice coming from the mating of parental generation (F<sub>0</sub>) black C57BL/6Jico females, which were homozygous for the mutant non-agouti allele, and F<sub>0</sub> agouti male CBA/Jlco, which were homozygous and heterozygous for the wild agouti allele, of 9-12 weeks of age were artificially inseminated at 13 hours or 22 hours after a gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) injection at the proestrus phase. F<sub>2</sub> mice were maintained under constant conditions of temperature and photoperiod until their natural death. At the age of 28 weeks, a F<sub>2</sub> female from each litter was housed with a F<sub>1</sub> male in order to test her reproductive fitness. Most animals were necropsied at the same day they died.*

*Results: Virgin F<sub>2</sub> black mice (both males and females) exhibited higher (P < 0.05) life span than virgin F<sub>2</sub> agouti mice. No association between coat color of virgin F<sub>2</sub> mice and death cause was found. Size of litters at birth and at weaning, pre-weaning mortality, between-labor intervals, mean number of labors per female and age of female mice at the last labor were not significantly affected by the coat color of breeding F<sub>2</sub> females.*

*Conclusions: Virgin F<sub>2</sub> mice, homozygous for the mutant non-agouti allele, exhibit a higher life span than mice homozygous or heterozygous for the wild agouti allele. The genotype of the agouti locus, however, does not affect reproductive fitness of F<sub>2</sub> female mice.*

**Key words:** Agouti locus. Artificial insemination. Genetic segregation. Longevity. Reproductive fitness.

## INTRODUCCIÓN

La longevidad y la eficacia reproductora de un individuo están controladas tanto por factores genéticos como por factores medio-ambientales. Entre los pocos sistemas genéticos que se conocen en la actualidad que afectan estas variables métricas, podemos mencionar al complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) que se denominada H-2 en ratones y HLA en humanos (1-5). De hecho, Smith and Walford (6) utilizando ratones congénicos (cepas endogámicas que teóricamente difieren las unas de las otras únicamente en el complejo génico H-2) con tres dotaciones genéticas distintas, demostraron que la longevidad depende tanto de la dotación genética de la cepa como del sexo y del haplotipo del complejo H-2 [un haplotipo es una combinación de alelos de loci estrechamente unidos que se encuentran en un mismo cromosoma y que tienden a heredarse juntos. En el ratón, el complejo H-2 se localiza en el cromosoma 17 y los distintos haplotipos de este complejo se constituyen mediante la combinación de alelos de clase I (K, D, L, Qa, Tla) y clase II (Ab, Ae, Eb, Ea)]. Por otra parte, se ha demostrado que (a) embriones de ratón que presentan una sobre-expresión de los productos de los loci H-2D<sup>d</sup> y H-2K<sup>b</sup> no se desarrollan más allá de la

mitad de la gestación; y (b) ratones transgénicos carentes del gen del complejo H-2, β2-m, exhiben un comportamiento reproductor anómalo con respecto al acto del emparejamiento/coito y cuidado de la descendencia (5).

No obstante, existen otros genes no pertenecientes al complejo MHC que también afectan la longevidad y eficacia reproductora de los individuos. En el ratón, por ejemplo, se han localizado dos genes en el cromosoma 1 y 2, respectivamente, y uno en el cromosoma 4, 7, y 12, respectivamente, que influyen directamente sobre la longevidad de los individuos (7, 8). Recientemente, también se ha sugerido que varios genes del cromosoma Y podrían desempeñar un papel importante en la determinación o modulación de la longevidad y eficacia reproductiva en mamíferos (4) y la mosca del vinagre *Drosophila melanogaster* (9).

Este estudio tiene por objetivo determinar el efecto del locus agutí (amarillo), localizado en el cromosoma 2, sobre la longevidad y eficacia reproductiva de ratones híbridos de la segunda generación (F<sub>2</sub>) procedentes del cruce de ratones híbridos (C57BL/6Jlco X CBA/Jlco) de la primera generación (F<sub>1</sub>). Los ratones de la generación parental (F<sub>0</sub>) procedían de dos cepas endogámicas y, por tanto, prácticamente homocigóticas para todos sus genes. Estas cepas se caracterizan por presentar distinto color de

pelaje debido a la presencia de dos alelos agutíes salvajes (AA) (cepa CBA/JIco) o bien dos alelos mutantes no-agutíes (aa) (cepa C57BL/6JIco) que confieren un pelaje agutí o negro, respectivamente, a sus portadores. Además, estas dos cepas F0 se diferencian por exhibir distintas longevidades, incidencia de tumores espontáneos y eficacias reproductivas. En particular, la cepa CBA/JIco, cuando se la compara con la cepa C57BL/6JIco, presenta una menor esperanza de vida, mayor incidencia de hepatomas y tumores mamarios, menor incidencia de linfomas y tumores pituitarios, menor tamaño de camada y número de ratones nacidos por hembra y mayor mortalidad pre-destete (10). Hay que tener en cuenta, sin embargo, que el método de cruzamiento seguido en este estudio no permite distinguir el genotipo AA del Aa, ya que ambos muestran el mismo color de pelaje, es decir, color agutí. Por ello, sólo se comparó el genotipo aa frente al fenotipo [A.] (genotipo AA más Aa).

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Animales utilizados

Ratonas híbridas F<sub>1</sub> procedentes del cruce entre hembras F0 C57BL/6JIco (Criffa, Santa Perpetua de la Mogoda, Barcelona) y machos F0 CBA/JIco (Criffa) de 9-12 semanas de edad fueron inseminadas artificialmente 13 horas (< 1 hora post-ovulación; n = 49) ó 22 horas (< 10 horas post-ovulación; n = 73) después de una inyección intraperitoneal de 200 ng de hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH) (Luforan 500, Serono Laboratories, Madrid, España) en fase de proestro. En cada sesión, se inseminó un máximo de 6 hembras F<sub>1</sub> usando una mezcla de espermatozoides procedente de 1-4 machos F<sub>1</sub> de 12-14 semanas de edad. En el día tercero tras el nacimiento, se igualó el tamaño de camada y el sexo de las crías del grupo control con el tamaño de camada y sexo de las crías del grupo de envejecimiento (11).

A los 21 días (destete) se separaron los machos y las hembras F<sub>2</sub>, se marcaron mediante cortes o agujeros en las orejas para su identificación y se alojaron en grupos de 10 en jaulas de plástico (35.5 x 23.5 x 18.5 cm). A la edad de 28 semanas, se seleccionó al azar una hembra de cada camada. Estas hembras se alojaron con un macho híbrido F<sub>1</sub> de 14 semanas, permaneciendo juntos en la misma jaula hasta que la hembra finalizó su vida reproductiva o aconteció su muerte natural. Todos los animales se alojaron en una habitación con temperatura controlada (20-22°C) con un periodo de 14 horas diarias de luz (8:00-22:00 h) y

fueron alimentados con una dieta estándar de laboratorio y agua ad libitum. El manejo y cuidado de todos los animales utilizados en este estudio se realizó siguiendo las normas del National Research Council (NRC) publicadas en la "Guía para el Cuidado y Manejo de los Animales de Laboratorio" (1996).

### Necropsias

Todas las jaulas se examinaron diariamente hasta que murieron todos los ratones. En el mismo día de la muerte, se practicó la necropsia, excepto en aquellos casos que fue imposible debido a la presencia de un estado avanzado de descomposición o al hecho de que los cadáveres habían sido parcial o totalmente devorados por los compañeros de jaula. Durante la necropsia, se tomaron muestras de los órganos más importantes que presentaban anomalías externas o signos de enfermedad y se fijaron en una solución de formaldehído al 10% para su posterior examen histológico. Las preparaciones histológicas se incluyeron en parafina y se realizaron cortes de 5 µm de grosor. A continuación se practicó su tinción con hematoxilina-eosina.

### Análisis estadístico

La prueba de la Chi-cuadrado de Pearson se utilizó para la comparación de frecuencias en tablas de 2 x 2. La prueba binomial de una-muestra se empleó para contrastar la hipótesis nula de que la segregación del color del pelaje aconteció según una frecuencia esperada de 3:1. Para la comparación de medias entre grupos se utilizaron diseños anidados de efectos mezclados (alguna variables son aleatorias, mientras que otras son fijas) del análisis de la varianza (ANOVA). Se aplicaron diseños anidados para controlar las posibles correlaciones entre individuos pertenecientes a la misma madre y, de esta forma, evitar el sesgo introducido en el análisis por un aumento irreal del tamaño de la muestra (12). La prueba de Levene se utilizó para comprobar la igualdad de varianzas entre grupos. La prueba de una muestra de Kolmogorov-Smirnov sirvió para comprobar que las variables seguían una distribución normal. Si una variable no se ajustaba a una distribución normal, se aplicaba la transformación logarítmica (peso corporal e intervalo entre partos), raíz cuadrada (si los datos eran contajes) o logística (si los datos eran porcentajes). El efecto del color del pelaje, así como el tiempo de inseminación de los ovocitos, orden del parto y sexo de la descendencia sobre las distintas causas de muerte se analizó aplicando un modelo log-lineal jerárquico

con un procedimiento de selección de variables “backwards”. Los modelos log-lineales son útiles para descubrir relaciones complejas entre variable categóricas dispuestas en tablas cruzadas de múltiples vías. Es decir, los modelos log-lineales son similares a los modelos de regresión múltiple, aunque en estos últimos se utilizan tanto variables continuas como categóricas. Los valores que se presentan en las tablas y figuras son medias  $\pm$  errores estándares. La significatividad fue definida como ( $p \leq 0.05$ ). El análisis estadístico fue llevado a cabo utilizando el Paquete Estadístico para las Ciencias Sociales (SPSS Inc., Chicago, IL).

## RESULTADOS

### Segregación del color del pelaje

En la Tabla 1 se muestra la segregación del gen agutí en ratones  $F_2$ . Como puede observarse, la segregación del color del pelaje fue similar tanto en los dos tiempos de inseminación como entre machos y hembras. No se encontraron diferencias significativas en la frecuencia de segregación del gen agutí con respecto al valor esperado de 3:1.

### Efecto del color del pelaje sobre la longevidad

En la figura 1, se muestran las curvas de supervivencia de ratones vírgenes  $F_2$ . Como puede observarse, los ratones negros (tanto machos como hembras) exhibieron una mayor ( $P (0.05)$ ) esperanza de vida que los ratones agutíes. La mediana de la curva de supervivencia de la población total (machos y hembras) fue  $99.0 \pm 1.9$  semanas [intervalo de confianza del 95%: (95.2; 102.8)] en los ratones agutíes ( $n = 122$ ) y  $108.0 \pm 5.4$  semanas [intervalo de confianza del 95%: (97.4; 118.6)] en los ratones negros ( $n = 35$ ). Los ratones agutíes, sin embargo, mostraron una mayor va-

rianza en la duración de la vida. No se encontraron diferencias significativas entre ratones agutíes y negros con respecto al peso corporal de los individuos desde el destete hasta su muerte natural (Figura 2).

### Observaciones histopatológicas

El modelo log-lineal jerárquico aplicado para descubrir la existencia de posibles asociaciones entre variable categóricas no evidenció ninguna relación entre el color del pelaje de los ratones vírgenes  $F_2$  y su causa de muerte (Tabla 2). Únicamente, se encontró una asociación significativa ( $P \leq 0.05$ ) entre sexo y causa de muerte de los ratones. Esta asociación fue debida básicamente al hecho de que las hembras vírgenes presentaron un menor porcentaje de muertes por causa desconocida y mayor porcentaje de tumores que los machos vírgenes (Tabla 3).

### Efecto del color del pelaje sobre la eficacia reproductiva de ratonas $F_2$

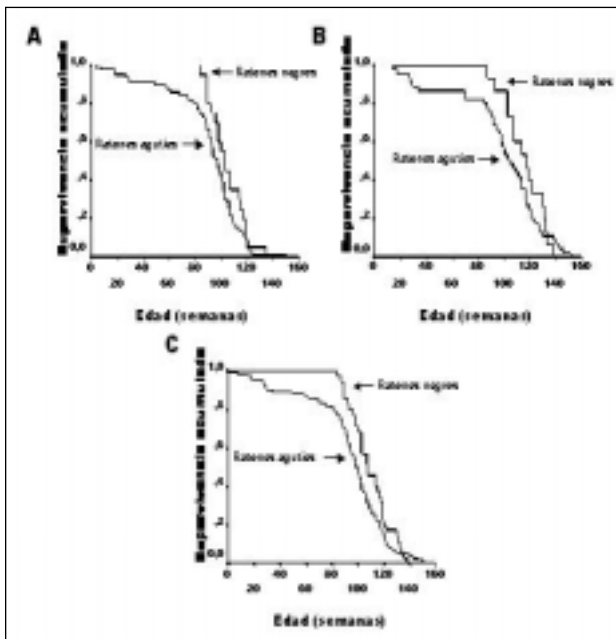
En la figura 3, se muestra el efecto del pelaje de ratonas  $F_2$  sobre el tamaño de camada en el parto y destete, mortalidad pre-destete e intervalo entre partos. El color de las ratonas reproductoras no ejerció ningún efecto significativo en ninguna de estas cuatro variables. El orden del parto, sin embargo, se asoció con un descenso del tamaño de camada tanto en momento del parto ( $P \leq 0.0005$ ) como en el destete ( $P \leq 0.0005$ ), así como con un aumento de la mortalidad pre-destete de la descendencia ( $P \leq 0.05$ ) e intervalo entre partos ( $P \leq 0.001$ ). Tampoco se encontraron diferencias significativas entre ratonas de pelaje agutí y negro con respecto al número medio de partos por hembra ( $9.7 \pm 0.8$  partos en ratonas agutíes frente a  $9.2 \pm 1.4$  partos en ratonas negras) y edad de la ratona en el último parto ( $65.2 \pm 2.5$  semanas en ratonas agutíes frente a  $68.4 \pm 5.0$  semanas en ratonas negras).

**Tabla 1**

*Segregación del color del pelaje en ratones  $F_2$  procedentes del cruce de ratones  $F_1$  (C57BL/6Jlco X CBA/Jlco)*

	Tiempo de inseminación		Sexo	
	$\approx$ 1 hora post-ovulación	$\approx$ 10 horas post-ovulación	Machos	Hembras
Agutí [A.]	74 (77.9) <sup>a</sup>	77 (77.0)	77 (79.4)	74 (75.5)
Negro (aa)	21 (22.1)	23 (23.0)	20 (20.6)	24 (24.5)

<sup>a</sup>Porcentajes entre paréntesis.



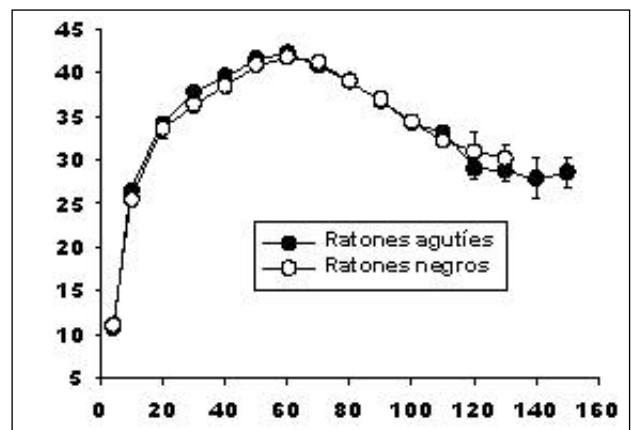
**Figura 1**

Efecto del color del pelaje sobre la longevidad de ratones vírgenes  $F_2$ . (A) Machos. (B) Hembras. (C) Machos y hembras.

## DISCUSIÓN

El presente estudio muestra que el locus agutí desempeña un papel importante en la determinación o modulación de la longevidad de ratones vírgenes. En concreto, los datos evidencian que los ratones vírgenes homocigóticos (aa) para el alelo mutante no-agutí, es decir, ratones negros, exhiben una mayor esperanza de vida que los individuos heterocigóticos (Aa) u homocigóticos (AA) para el alelo salvaje, genotipos que confieren un pelaje agutí a sus portadores. Es interesante, también, resaltar que los ratones vírgenes agutíes presentaron una mayor varianza en la duración de la vida que los ratones negros. Esta circunstancia podría explicarse por el hecho de que la población de ratones agutíes es más heterogénea (individuos con genotipo AA y Aa) que la población de ratones negros (genotipo aa).

Hasta el momento actual, se habían descrito dos genes en el cromosoma 1 y 2, respectivamente, y uno en el cromosoma 4, 7, y 12, respectivamente, que se correlacionan con la longevidad de los individuos (7, 8). Gracias al fenotipo resultante y al conocimiento del mapa de ligadura del genoma del ratón, el cual muestra las posiciones relativas de los genes basándose en las frecuencias de recombinación meiótica,



**Figura 2**

Efecto del color del pelaje sobre el peso corporal de ratones vírgenes  $F_2$ .

sabemos que el gen agutí es distinto a los dos genes anteriormente descritos, localizados también en el cromosoma 2 (8). En concreto, los dos genes descritos por Gelman et al. (8) son el gen H3 (histocompatibilidad 3) y el gen Cd44 (antígeno CD44, también denominado Ly-24, Pgp-1 ó HERMES), los cuales se localizan en la posición 65.0 y 56.0 centimorgans, mientras que el gen agutí está situado en la posición 89.0 centimorgans (The Jackson laboratory, <http://www.informatics.jax.org>).

Este trabajo, sin embargo, no es el primero en indicar que mutaciones en el gen agutí pueden afectar la longevidad de los individuos. De hecho, entre más de 25 alelos dominantes y recesivos que se conocen en la actualidad, resaltan los alelos “amarillo letal” (Ay), “amarillo viable” (A<sup>v</sup>y), “amarillo-IAP” (A<sup>i</sup>ap<sup>y</sup>) y “amarillo hipervariable” (A<sup>h</sup>v<sup>y</sup>), los cuales desarrollan un síndrome pleiotrópico dominante que incluye, además de un color del pelaje agutí, obesidad, hiperinsulinemia, diabetes, aumento en el crecimiento somático, incremento en la susceptibilidad a hiperplasias y tumorigénesis, y, como promedio, un longevidad disminuida cuando se compara con los individuos no agutíes (revisado por 13).

Este estudio muestra, también, que la distribución de las causas de muerte no difiere entre los ratones vírgenes agutíes y negros. Este resultado contrasta con las diferencias existentes en la incidencia de tumores que presentan las cepas F0 C57BL/6Jlco y CBA/Jlco (ver introducción). No obstante, los datos están en consonancia con otras cepas e híbridos donde las diferencias en longevidad entre ellas no se pueden explicar por distintas incidencias de enfermeda-

**Tabla 2**  
*Relación entre el color del pelaje de los ratones vírgenes F<sub>2</sub> y su causa de muerte*

Color del pelaje	Nº de necropsias	Desconocida	Otras causas		Tumores								
			Total	Hígado	Bazo	Intestino	Óseo	Pulmón	Mama	Ovario	Riñón	Varios	
Agutí	92	29 (31.5) <sup>a</sup>	14 (15.2)	49 (53.3)	12 (13.0)	4 (4.3)	2 (2.2)	2 (2.2)	3 (3.3)	1 (1.1)	1 (1.1)	4 (4.3)	20 (21.7)
Negro	28	10 (35.7)	4 (14.3)	14 (50.0)	—	2 (7.1)	—	—	1 (3.6)	—	—	2 (7.1)	9 (32.1)

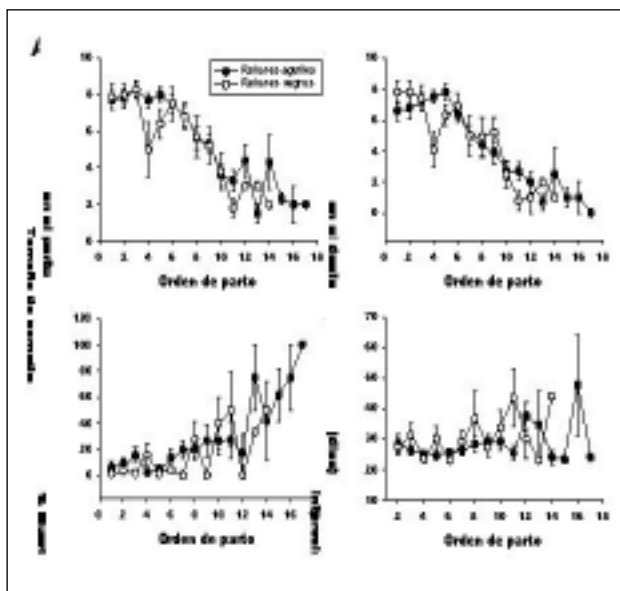
<sup>a</sup>Porcentaje entre paréntesis.

**Tabla 3**  
*Relación entre el sexo de los ratones vírgenes F<sub>2</sub> y su causa de muerte*

Sexo	Nº de necropsias	Desconocid	Otras causas		Tumores								
			Total	Hígado	Bazo	Intestino	Óseo	Pulmón	Mama	Ovario	Riñón	Varios	
Machos	75	29 (38.7) <sup>a</sup>	13 (17.3)	33 (44.0)	10 (13.3)	2 (2.7)	-	1 (1.3)	3 (4.0)	—	—	5 (6.7)	12 (16.0)
Hembras	45	10 (22.2) <sup>b</sup>	5 (11.1) <sup>b</sup>	30 (66.7) <sup>b</sup>	2 (4.4)	4 (8.9)	2 (4.4)	1 (2.2)	1 (2.2)	1 (2.2)	1 (2.2)	1 (2.2)	17 (37.8)

<sup>a</sup>Porcentaje entre paréntesis.

<sup>b</sup>Distribución significativamente (P ( 0.05) diferente a la distribución exhibida por los machos.



**Figura 3**

*Efecto del color del pelaje de ratonas F<sub>2</sub> sobre el tamaño de camada en el parto (A), tamaño de camada en el destete (B), mortalidad pre-destete (C) e intervalo entre partos (D).*

des o tumores específicos (14). Las únicas diferencias significativas encontradas en el presente estudio entre las distintas causas de muerte fueron entre la población de hembras y de machos vírgenes, con un menor porcentaje de muertes por causa desconocida y mayor porcentaje de tumores en las hembras que en los machos.

A diferencia del efecto del gen agutí sobre la longevidad observada en este estudio, no encontramos ninguna evidencia clara de que este locus afectara la eficacia reproductiva de los individuos. En concreto, las ratonas agutíes y negras exhibieron similares tamaños de camada en el parto y destete, mortalidades pre-destete, intervalos entre partos, número medio de partos por hembra y edad en el último parto. Tal como se ha mencionado anteriormente, parece ser que la eficacia reproductiva en mamíferos está determinada o modulada por otros loci genéticos tales como el complejo MHC (revisado por 5) y varios genes del cromosoma Y (4).

En resumen, el presente estudio muestra que los ratones vírgenes F<sub>2</sub> homocigóticos para el alelo mutante no-agutí exhiben una mayor esperanza de vida que los ratones homocigóticos o heterocigóticos para

el gen agutí salvaje. El genotipo del locus agutí, sin embargo, no afecta la eficacia reproductiva de los individuos. Teniendo en cuenta la existencia de otros muchos loci genéticos, aquí sólo hemos intentado identificar una mutación genética del gen agutí que afecta la longevidad de los individuos portadores. En ningún momento, se ha pretendido analizar la interacción de los múltiples loci genéticos que afectan la longevidad de los individuos con distintas dotaciones cromosómicas y condiciones medio-ambientales.

### AGRADECIMIENTOS

Este estudio ha sido realizado gracias a la ayuda GV99-138-1-04 concedida por la "Conselleria de Cultura, Educació i Ciència, Generalitat Valenciana"; las ayudas FIS 00/0668 y FIS 01/0138 concedidas por el "Instituto de Salud Carlos III, Fondo de Investigación Sanitaria, Ministerio de Sanidad y Consumo"; y la ayuda 1FD97-1035-C02-01 concedida por la CICYT (Ministerio de Educación y Cultura, España) y la Unión Europea.

### BIBLIOGRAFÍA

1. **Walford R.L.:** The major histocompatibility complex and aging in mammals. En Finch, C.E. y Johnson, T.E. (eds), *Molecular Biology of Aging*. Wiley-Liss, New York 1990; p. 31-41
2. **Crew M.D.:** Genes of the major histocompatibility complex and the evolutionary genetics of lifespan. *Genetica* 1993; 91: 225-238
3. **Yunis E.J, Salazar M.:** Genetics of life span in mice. *Genetica* 1993; 91: 211-223
4. **Tarín J.J.:** Do the fastest concepti have a shorter life span? *Hum. Reprod* 1997; 12: 885-889
5. **Fernandez N, Cooper J, Sprinks, M, AbdElrahman M, Fiszer D, Kurpisz M, Dealtry G.:** A critical review of the role of the major histocompatibility complex in fertilization, preimplantation development and feto-maternal interactions. *Hum Reprod Update* 1999; 5: 234-248
6. **Smith GS, Walford RL.:** Influence of the main histocompatibility complex on ageing in mice. *Nature* 1977; 270: 727-729
7. **Yunis EJ, Watson AL, Gelman RS, Sylvia SJ, Bronson R, Dorf ME.:** Traits that influence longevity in mice. *Genetics* 1984; 108: 999-1011
8. **Gelman R, Watson A, Bronson R, Yunis E.:** Murine chromosomal regions correlated with longevity. *Genetics* 1988; 118: 693-704
9. **Chippindale AK, Rice WR.:** Y chromosome polymorphism is a strong determinant of male fitness in *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 2001; 98: 5677-5682
10. **The Staff of The Jackson Laboratory:** Handbook on genetically standardized JAX mice. Margaret C. Green y Barbara A. Witham (Eds), 4ª edición, Bar Harbor, Maine, USA, 1991.
11. **Tarín JJ, Pérez-Albalá S, Aguilar A, Miñarro J, Hermenegildo C, Cano A.:** Long-term effects of post-ovulatory aging of mouse oocytes on F<sub>1</sub> offspring: a two generational study. *Biol. Reprod* 1999; 61: 1347-1355
12. **Wainwright PC.:** Issues of design and analysis relating to the use of multiparous species in developmental nutritional studies. *J. Nutr* 1997; 128: 661-663
13. **Miltenberger RJ, Mynatt RL, Wilkinson JE, Woychik RP.:** The role of the agouti gene in the yellow obese syndrome. *J Nutr* 1997; 127: 1902S-1907S
14. **Bronson RT.:** rate of occurrence of lesions in 20 inbred and hybrid genotypes of mice sacrificed at 6 month intervals during the first years of life. En *Genetic Effects on Aging II*, Harrison, D.E. (ed.). Telford Press, West Caldwell, New York, pp. 279-358