

COLEGIO DE POSTGRADUADOS



INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO
POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GANADERÍA

Frecuencia, morfología y producción de progesterona *in vitro* en cuerpos lúteos de pequeños rumiantes domésticos

Cristina Tolentino Castro

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

2014

La presente tesis titulada: **Frecuencia, morfología y producción de progesterona *in vitro* en cuerpos lúteos de pequeños rumiantes domésticos.** Realizada por la alumna: **Cristina Tolentino Castro** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA

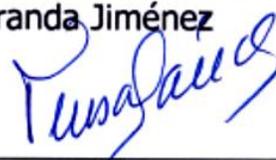
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA



Dra. Leonor Miranda Jiménez

ASESORA



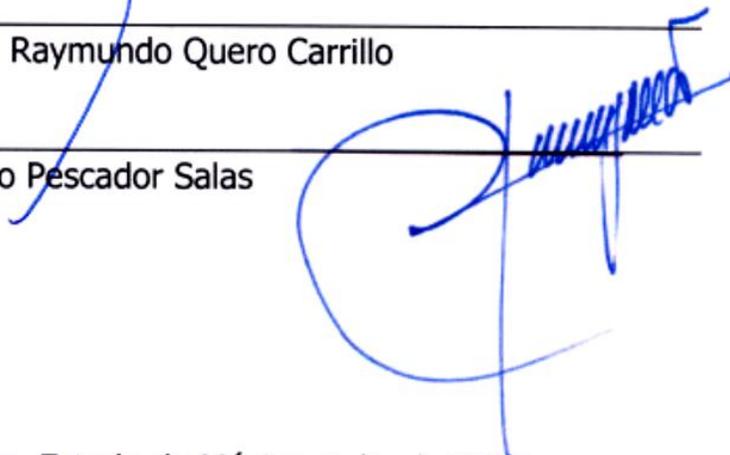
Dra. María Teresa Sánchez Torres Esqueda

ASESOR



Dr. Adrián Raymundo Quero Carrillo

ASESOR



Dr. Nazario Pescador Salas

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Julio de 2014

Frecuencia, morfología y síntesis de progesterona *in vitro* en cuerpos lúteos de pequeños rumiantes

Cristina Tolentino Castro
Colegio de postgraduados 2014

RESUMEN

El cuerpo lúteo (CL) es una glándula endocrina transitoria, encargada de síntesis de progesterona, necesaria en el mantenimiento de la gestación y regulación del ciclo estral. Se localiza en ovario y puede presentarse como estructura compacta o cavitaria; sin embargo, su frecuencia, morfología y capacidad secretora han sido escasamente evaluadas. Con el objetivo de determinar frecuencia, morfología y producción de progesterona (P4) *in vitro* de cuerpos lúteos (CLs) cavitarios en Ovino Productores de Lana, Pelibuey y Cabras, se usaron CLs cavitarios y compactos recolectados en rastro inmediatamente al sacrificio, se conservaron en solución salina más antibiótico, hasta su procesamiento en laboratorio. Características morfológicas evaluadas en ambos tipos de CLs (peso, largo, ancho, grueso y periferia) en raza y especie, fueron complementadas con observación microscópica. La concentración de P4 *in vitro* fue evaluada en 0.1g de tejido de CLs cavitarios y compactos, incubados a 36 horas en presencia y ausencia de gonadotropina coriónica equina (eCG). Las características morfológicas se evaluaron con análisis completamente al azar en arreglo factorial 2x2; para concentración de P4, se empleó análisis completamente al azar en arreglo factorial 3x2. La frecuencia observada fue: para CLs cavitarios 35.8%, 50.6% y 60.4% en Ovinos Productores de Lana, Pelibuey y Cabras, respectivamente. Los CLs cavitarios presentan menor tamaño ($P \leq 0.05$) en perímetro, peso, largo, ancho y grueso. La concentración promedio de P4 no mostró diferencias ($P < 0.05$) para tipo de CL cavitario o compacto pero si para raza, siendo los Ovinos Pelibuey los que presentan mayor producción de P4; en esta misma raza, la adición de eCG al medio de cultivo favoreció la respuesta en producción de P4 de CL compactos; mientras que en Cabras, la respuesta fue negativa para ambos tipos de CL. La frecuencia de CLs cavitarios varía en relación a especie, raza y técnica de evaluación utilizada. Los Caprinos mostraron mayor frecuencia de CLs cavitarios, en comparación a Ovinos. Los CLs cavitarios son pequeños; sin embargo, la producción

de P4 no se ve afectada por su tamaño, lo que puede deberse a que los CLs cavitarios presentan mayor tamaño de células lúteas (hipertrofia).

Palabras clave: CL cavitario, CL compacto, ovinos, cabras, gonadotropina y eCG

**Frequency, morphology and *in vitro* progesterone synthesis in corpora lutea
from small ruminants**

**Cristina Tolentino Castro
Colegio de postgraduados 2014**

ABSTRACT

The corpus luteum (CL) is localized in ovary and can be presented as compact or cavitory structure; the CL is a transient endocrine gland, responsible for progesterone synthesis, required for pregnancy and estrous cycle regulation. However, CLs frequency, morphology and secretory capacity have been poorly evaluated. In order to determine frequency, morphology and *in vitro* progesterone (P4) production, cavitory CLs from Wool Ewes, Pelibuey Ewes and Goats both cavitory and compact CLs were collected immediately after slaughter and preserved within cold saline solution plus antibiotic, until laboratory evaluation. Morphological characteristics evaluated in both CLs types (weight, length, width, thickness and periphery) into breeds and species, were complemented by microscopic observation. *In vitro* P4 concentration was tested using 0.1g of cavitory or compact CLs tissue, incubated trough 36 hours with or without eCG. Data was evaluated as follows: Morphological characteristics were analyzed through a Completely Randomized Design with a 2x2 factorial arrangement and P4 concentration through a Completely Randomized Design with 3x2 factorial arrangement. For cavitory CLs the observed frequency was: 35.8%, Wool Ewes; 50.6%, Pelibuey Ewes and 60.4% in Goats. The cavitory CLs showed smaller ($P \leq 0.05$) circumference, weight, length, width, and thickness. In average, no differences were showed for P4 concentration ($P < 0.05$) for CL type. Increased progesterone production was registered for Pelibuey ewes; for the same breed, eCG addition to culture medium favored progesterone production by compact CLs, whereas, negative response was observed in both CLs type of goats. The cavitory CLs frequency differs according species, breed and evaluation technique. A higher frequency of cavitory CLs was detected in Goats compared to both ewe breeds. Although cavitory CLs are smaller, P4 production was not affected and it may be due to greater luteal cells size and activity present in cavitory CLs (hypertrophy).

DEDICATORIA

A Dios: por permitir el respirar de cada día, por guiarme a cada paso de mi vida, por darme fortaleza para superar tropiezos y seguir adelante.

A los amores de mi vida: el ser humano necesita de cosas materiales para vivir, de igual modo, de afecto cariño y amor. Y es por ello que agradezco tener a dos seres que son mi inspiración para ser mejor cada día; mi hijo **José Eliel** que es la luz de mi vida y a mi Amado **José Alberto Hernández** por el amor y cariño que me brinda.

A mis padres: Paz Castro y Senorino Tolentino por los valores inculcados, por ese apoyo incondicional que me brindan, confianza que depositan en mí y por ayudarme a que siga creciendo profesionalmente.

A mi hermano: Erasto Tolentino Castro, por su apoyo y por tener las palabras adecuadas en el momento oportuno y enseñarme a luchar y defenderme cuando es necesario.

A mis hermanas: Isabel, Vicenta, Magdalena y Gaby.

AGRADECIMIENTOS

A CONACyT: Por la solvencia económica brindada en estos dos años para realizar mis estudios de Maestría de tiempo completo.

Al Colegio de Posgraduados: Por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios en esta institución y permitirme pertenecer al Postgrado de Recursos Genéticos y Productividad-Ganadería.

A la Dra. Leonor Miranda Jiménez: Por la confianza, apoyo, orientación y consejos brindados durante este tiempo, y por ayudarme a realizar este trabajo de investigación.

A la Dra. María Teresa Sánchez Torres Esqueda: Por ayudar a mi formación académica, orientación y consejos brindados para realizar este trabajo de investigación.

Al Dr. Adrián Raymundo Quero Carrillo: Por la orientación y consejos brindados en este trabajo de investigación.

Al Dr. Nazario Pescador Salas: Por formar parte de mi Consejo Particular.

Al Dr. Herrera Haro José Guadalupe: Por esa sencillez y calidad humana, por ayudarme a realizar análisis estadístico de este trabajo de investigación.

Al Biólogo Mario Cárdenas: Del Departamento de Biología de la Reproducción Laboratorio de Hormonas Proteicas por ayudarme al procesamiento del análisis de P4 de mi trabajo de investigación.

Al MC. Luis Carrillo por el tiempo, y orientación brindaba en mi trabajo de investigación.

A cada uno de los profesores: que ayudaron a mi formación académica compartiendo sus conocimientos durante mi estancia en el Colegio de Postgraduados.

A mis compañeros que me brindaron su apoyo y compañía: Haydee, Roxana, Julio, Monserrat, Rafaela, Luis Carrillo, Eva, Sara Diana, Silvia.

A las Líneas Prioritarias de Investigación: Innovación Tecnológica (LPI-16) y Sistemas de Producción Agrícola, Pecuaria, Forestal, Acuícola y Pesquera (LPI11).

.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	ii
ABSTRACT	iv
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTOS	vi
ÍNDICE DE CUADROS	xii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
ABREVIATURAS	xiv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	2
2.1. Aspectos reproductivos de la Oveja	2
2.2. Etapas del ciclo estral de la Oveja	2
2.3. Aspectos reproductivos de la Cabra.....	4
2.4. Ciclo estral de la Cabra	4
2.5. Aparato reproductor de Oveja y Cabra.....	6
2.6. Ovario.....	7
2.7. Características del ovario de Oveja y Cabra	8
2.8. Desarrollo folicular.....	9

2.9. Cuerpo lúteo (CL).....	11
2.10. Formación de tipos celulares del cuerpo lúteo	12
2.11. Características de las células del cuerpo lúteo	13
2.12. Tipos de cuerpo lúteo.....	14
2.12.1. Clasificación del cuerpo lúteo de acuerdo a tiempo de vida	14
2.12.2. Cuerpo lúteo de vida larga.....	14
2.12.3. Cuerpo lúteo de vida corta.....	14
2.13. Clasificación del cuerpo lúteo según estructura	15
2.13.1. Cuerpo lúteo compacto.....	15
2.13.2. Cuerpo lúteo cavitario.....	15
2.14. Clasificación del cuerpo lúteo en base a etapa fisiológica	16
2.14.1. Cuerpo lúteo de gestación.....	16
2.14.2. Cuerpo lúteo de ciclo estral	16
2.14.3. Cuerpo lúteo de lactancia	16
2.14.4. Cuerpo lúteo de pseudopreñez.....	17
2.14.5. Función del cuerpo lúteo	17
2.15. Luteólisis	17
III. OBJETIVOS	18
3.1. Objetivo general	18
3.2. Objetivos particulares.....	18
IV. HIPÓTESIS.....	19

4.1.	Hipótesis general	19
4.2.	Hipótesis particulares	19
V.	MATERIALES Y MÉTODOS	19
5.1.	Localización del área de estudio	19
5.2.	Recolección de ovarios	20
5.3.	Identificación de cuerpos lúteos cavitarios	20
5.4.	Características morfológicas de cuerpos lúteos compactos y cavitarios de Ovino productor de Lana, Ovino Pelibuey y Cabras.	20
5.5.	Producción de progesterona in vitro de cuerpo lúteo	21
5.6.	Características histológicas de cuerpos lúteos	22
5.7.	Análisis estadístico.....	23
5.7.1.	Frecuencia de cuerpos lúteos.....	23
5.7.2.	Características morfológicas del cuerpo lúteo	23
5.7.3.	Concentración de progesterona in vitro	24
5.7.4.	Características histológicas	24
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
6.1.	Frecuencia de cuerpos lúteos cavitarios y cuerpos lúteos compactos de Ovino 25	
6.2.	Frecuencia de cuerpos lúteos cavitarios y cuerpos lúteos compactos de Cabra 26	

6.3. Características morfológicas de cuerpos lúteos cavitarios y cuerpos lúteos compactos de ovino	28
6.4. Características morfológicas de cuerpos lúteos cavitarios y cuerpos lúteos compactos de Cabras	29
6.5. Producción de progesterona in vitro en cuerpos lúteos cavitarios y cuerpos lúteos compactos de ovinos, en presencia o ausencia de eCG	31
6.6. Producción de progesterona in vitro por cuerpos lúteos cavitarios y cuerpos lúteos compactos de Cabra, en presencia o ausencia de eCG	32
VII. CONCLUSIONES	36
VIII. LITERATURA CITADA	38

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Arreglo de tratamientos para la evaluación de producción de P4 en ovarios con cuerpo lúteo cavitario ó compacto en pequeños rumiantes.....	22
Cuadro 2. Dimensiones de cuerpos lúteos diseccionados de Ovinos	28
Cuadro 3. Dimensiones de cuerpos lúteos diseccionados de Ovino Pelibuey	28
Cuadro 4. Dimensiones de cuerpos lúteos diseccionados de Cabra.....	29
Cuadro 5. Dimensiones de cuerpos lúteos diseccionados de Ovinos Productores de Lana, Pelibuey y Cabras.....	29
Cuadro 6. Concentración promedio de progesterona por 0.1 g de tejido lúteo proveniente de cuerpos lúteos cavitarios y compactos de ovinos, en presencia y ausencia de eCG, incubado durante 36 hrs.....	31
Cuadro 7. Concentración promedio de progesterona por 0.1 g de tejido lúteo provenientes de cuerpos lúteos cavitarios y compactos de Cabra en presencia y ausencia de eCG incubado durante 36 hrs.....	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Funcionamiento hormonal durante el ciclo estral de Oveja.....	3
Figura 2. Representación de eventos fisiológicos durante el ciclo reproductivo de la Cabra.....	5
Figura 3. Anatomía del sistema reproductor femenino de Oveja	6
Figura 4. Anatomía del sistema reproductor femenino de Cabra	6
Figura 5. Estructuras principales del ovario.....	8
Figura 6. Dinámica folicular durante el ciclo estral, de 17 días, en la Oveja.....	10
Figura 7. Dinámica folicular durante el ciclo estral de la Cabra.....	11
Figura 8. Cuerpos lúteos diseccionados y clasificados en base a tamaño.....	21
Figura 9. Medición de cuerpos lúteos, mediante regla graduada Vernier (± 0.01 cm).	21
Figura 10. Porcentaje de CLs cavitarios y compactos en Ovinos Productores de Lana.....	26
Figura 11. Porcentaje de CLs cavitarios y compactos en Ovinos Pelibuey.	26
Figura 12. Porcentaje de CLs cavitarios y compactos en Cabra.	26
Figura 13. Cuerpos lúteos en Ovinos Productores de Lana, Pelibuey y Cabras	30
Figura 14. Producción de progesterona <i>in vitro</i> de cuerpos lúteos cavitarios y compactos de ovinos en presencia o ausencia de eCG	32
Figura 15. Producción de progesterona <i>in vitro</i> de cuerpos lúteos cavitarios y compactos de Cabras, en presencia o ausencia de eCG	33
Figura 16. Imagen de cuerpos lúteos compactos y cavitarios (40X), tinción de Hematoxilina y Eosina	37

ABREVIATURAS

°C= Centígrados

CLs= Cuerpos lúteos

CL = Cuerpo lúteo

Cm =Centímetros

E2= Estradiol

FSH=Hormona folículo estimulante

GnRH=Hormona Liberadora de Gonadotropina

eCG =Gonadotropina coriónica equina

hrs= horas

Km=kilometro

LH= Hormona luteinizante

Min= minutos

ml =mililitro

µm= micrómetro

nm = nanómetro

PAF= Paraformaldehído

PM= Periferia Mayor

Pm= Periferia menor

PGF2α= Prostaglandina

P4= Progesterona

RIA=radioinmunoanálisis

S/N = Sin numero

%= Porcentaje

I. INTRODUCCIÓN

El cuerpo lúteo (CL) es una glándula endocrina transitoria, formada a partir del folículo después de la liberación del óvulo (Stocco *et al.*, 2007; Olivera *et al.*, 2007). El CL puede presentarse tanto como estructura compacta o cavitaria (Kito *et al.*, 1986; Kastelic *et al.*, 1990; Perez-Marin, 2009). Esta cavidad contiene líquido e independientemente del tamaño, la cavidad es variable en tamaño y puede disminuir conforme avanza el ciclo estral, llegando a desaparecer en algunos casos al final de éste (Kito *et al.*, 1986; Kastelic *et al.*, 1990). Se han realizado trabajos en relación al tipo de CL en vacas (Kito *et al.*, 1986; Kastelic *et al.*, 1990; Tom *et al.*, 1998; Grygar *et al.*, 1997; García y Saladine, 2000). En Ovinos González de Bulnes *et al.* (2000) y Cabras (Hernández *et al.*, 2003; Simões *et al.*, 2005), han reportado que el tamaño de la cavidad central que presenta el CL y el área de tejido lúteo no se relacionan con la producción de P4, por lo consiguiente ésta no afecta la fertilidad. Por lo tanto, la función no está en relación al tipo de CL que se desarrolle durante el ciclo estral (Perez-Marin, 2009). Esta estructura no debe ser vista como patología sino como temporal (Kito *et al.*, 1986; Kastelic *et al.*, 1990). Se ha sugerido que la presencia de esta cavidad puede estar relacionada a causas metabólicas (Gabor *et al.*, 2004; Perez-Marin, 2009).

El objetivo del presente estudio fue identificar la frecuencia, morfología y secreción de P4 *in vitro* de CLs cavitarios y compactos de Ovino Productores de Lana, Ovino Pelibuey y Cabras.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Aspectos reproductivos de la Oveja

Los Ovinos, especie poliéstrica estacional, cuyo ciclo estral varía dependiendo de raza, ambiente, nutrición y, principalmente, fotoperiodo. Sin embargo, los Ovinos de pelo en regiones tropicales muestran 60% de actividad ovulatoria durante todo el año (Arroyo, 2011). El origen de la raza determina el comportamiento reproductivo estacional, las razas originarias de latitudes altas (>35°) presentan marcada estacionalidad (Malpaux *et al.*, 1997) y los Ovinos de origen mediterráneo o ecuatorial, presentan estacionalidad reproductiva reducida y, en algunas razas, es inexistente (Arroyo *et al.*, 2007). El ciclo reproductivo de la Oveja presenta anualmente dos etapas fisiológicas definidas (Barrell *et al.*, 1992). Una fase de anestro estacional (días largos), con ausencia de ciclos estrales regulares, receptividad sexual y ovulación y la otra, etapa reproductiva (días cortos), que se caracteriza por presencia de ciclos estrales regulares y ovulación (Karsch *et al.*, 1984; Malpaux *et al.*, 1997). En la mayoría de razas Ovinas, la época reproductiva se inicia en otoño e invierno, se caracteriza por ciclos estrales sucesivos con promedio de 16-18 días y anestro que ocurre generalmente durante primavera y verano (Ortavant *et al.*, 1985 Arroyo *et al.*, 2006).

2.2. Etapas del ciclo estral de la Oveja

El ciclo estral se divide en dos fases, considerando las estructuras presentes en ovario: 1) folicular de 2-3 días de duración; la cual, abarca proestro y estro 2) lútea que dura 13-14 días (metaestro y diestro). Estos periodos ocurren de manera cíclica, secuencial y con duración de: proestro, 2-3 días; estro 36 hrs, siendo 10 h más cortó

2.3. Aspectos reproductivos de la Cabra

En Cabras al igual que borregas, la actividad reproductiva se ve afectada por factores ambientales y fisiológicos (latitud, clima, raza, presencia del macho, nutrición, sistema de producción y principalmente, fotoperiodo; Fatet *et al.* 2011). La actividad sexual se inicia cuando el fotoperiodo disminuye, lo cual ocurre en otoño e invierno (Chemineau, 1983). En condiciones normales, el ciclo estral dura aproximadamente 21 días y sus variantes se asocian a una o dos ovulaciones que se producen 30-36 horas después de la actividad estral (Chemineau y Delgadillo 1993; Fatet *et al.*, 2011).

2.4. Ciclo estral de la Cabra

En hembras adultas en etapa reproductiva, el ciclo estral se divide en dos fases, una folicular y otra lútea. La folicular corresponde al desarrollo de estructuras foliculares y consiste en la maduración de folículos, dependiente de gonadotropinas hasta la ovulación. La hormona folículo estimulante (FSH) sintetizada y secretada por la glándula pituitaria, estimula el desarrollo folicular. Los folículos dependientes de gonadotropina, llegan a medir 2-3 mm, son reclutados y siguen con su crecimiento y dos o tres de estos alcanzan diámetro de 4 mm para entrar a la etapa de dominancia. Bajo la influencia de LH llegan a la etapa preovulatoria (6-9 mm); mientras que los folículos subordinados, sufren atresia folicular. El incremento de la concentración periférica de estradiol (17β), secretado sobre todo por el folículo de mayor tamaño, ejerce acción de retroalimentación positiva en el eje gonadotrópico, por lo que aumenta la secreción de hormona liberadora de gonadotropina (GnRH),

que ocasiona el pico de LH y desencadena la ovulación 20-26 horas después (Chemineau y Delgadillo, 1993; Fafet *et al.*, 2011)

La fase lútea se inicia desde el momento de la ovulación, con duración de 17 días. Las células que formaban al folículo ovulatorio cambian a células lúteas, que dan paso a la formación del CL. Este CL secreta P4, aproximadamente durante 16 días. Durante esta fase lútea, dependiente de gonadotropina, el crecimiento folicular continúa de manera similar y la P4 inhibe la ovulación. Al final de la fase lútea, 16-18 días después del estro, la PGF₂ α secretada por el CL no gestante induce a la regresión (luteólisis) y la disminución de la secreción de P4 inhibe la secreción de hormonas gonadotropicas; lo cual, da inicio a un nuevo ciclo (Fig. 2).

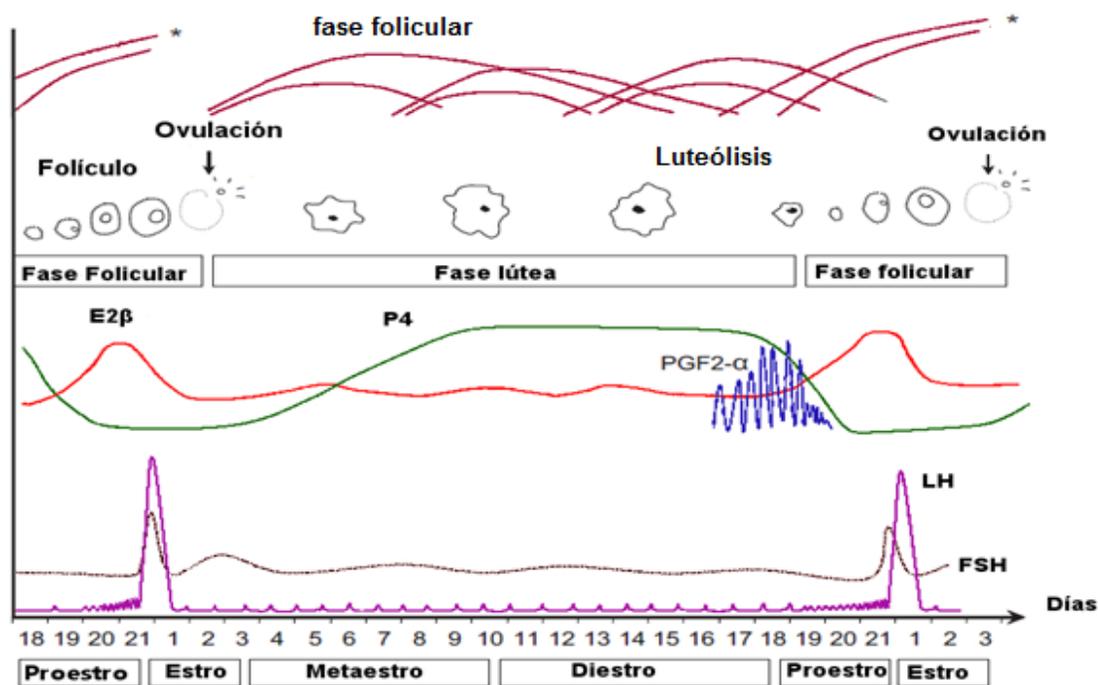


Figura 2. Representación de eventos fisiológicos durante el ciclo reproductivo de la Cabra (Fafet *et al.*, 2011).P4= progesterona, E2 β = estradiol 17 beta, LH= hormona luteinizante, FSH= hormona foliculo estimulante y PGF₂ α = prostaglandinas F-2 alfa.

2.5. Aparato reproductor de Oveja y Cabra

El aparato reproductor femenino de Oveja y Cabra está formado por vulva, vagina, cuello uterino, cuerpo del útero, cérvix, trompas uterinas, oviducto (trompas de Falopio) y ovario (Fig. 3; Fig. 4).

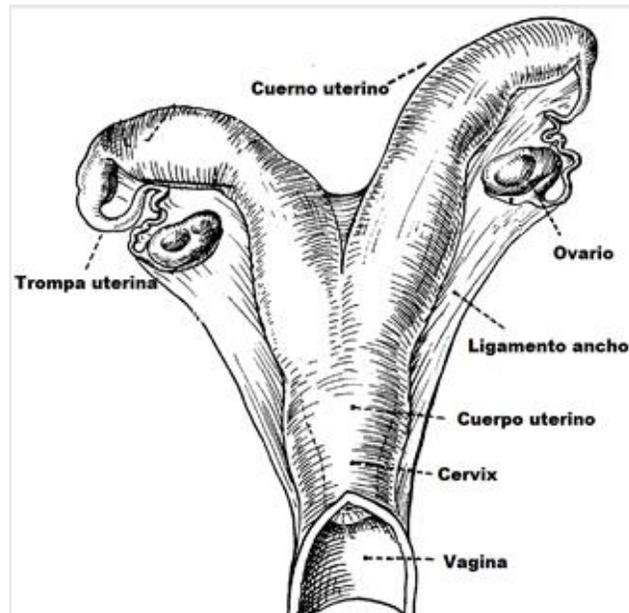


Figura 3. Anatomía del sistema reproductor femenino de Oveja (Melampy y Anderson 1968).

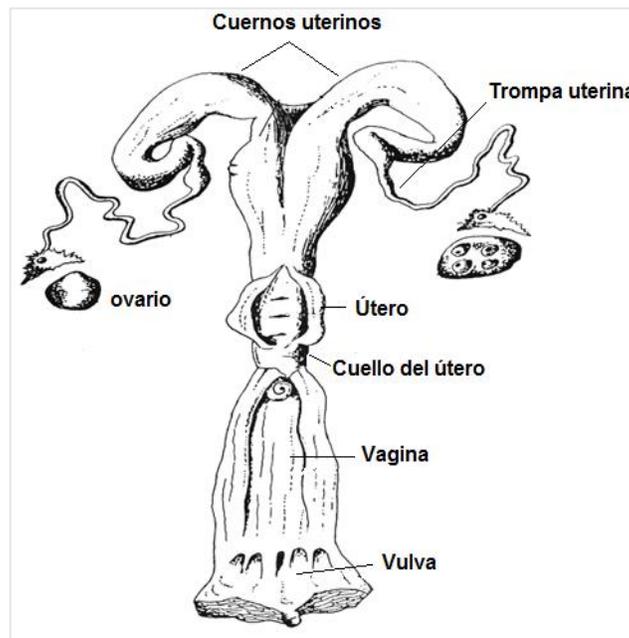


Figura 4. Anatomía del sistema reproductor femenino de Cabra (Vera, 1993).

2.6 Ovario

Los ovarios son órganos pares importantes en la reproducción de la hembra cuya forma varía según especie, etapa del ciclo estral o si la hembra es politoca o monotoca. En especie politoca (cerda, gata, perra) cuando el ovario es funcional, posee varios folículos que le dan la apariencia a racimo de uvas y, en especie monotoca como: vaca, Oveja y yegua, el ovario tiene forma ovoidea (Urroz, 1991). Los ovarios tienen dos funciones principales: producir gametos femeninos (óvulos) (Senger, 2003) y proveer el ambiente hormonal adecuado para mantener la función reproductiva. Dentro de las hormonas ováricas se encuentran: estrógenos, progestágenos, andrógenos y relaxina, entre otras. En su parte exterior, el ovario contiene tejido conectivo llamado túnica albugínea cubierta por una sola capa de células cúbicas llamada epitelio germinal, debajo de esta capa se encuentra la corteza ovárica, que alberga a la población de ovocitos, éstos están rodeados de células que se desarrollan y producen folículos que maduran y, eventualmente, llegarán a ovular. De igual manera, en la corteza, encontramos el CL, que sufre una transición gradual en tamaño y color, pasando por ser una estructura color naranja/amarilla a una similar a una cicatriz color blanca o amarillo pálido (cuerpo albicans). En la parte central del ovario se encuentra la médula, que alberga vasos sanguíneos, linfáticos y nervios y se compone principalmente de tejido conjuntivo denso (Fig. 5; Senger, 2003).

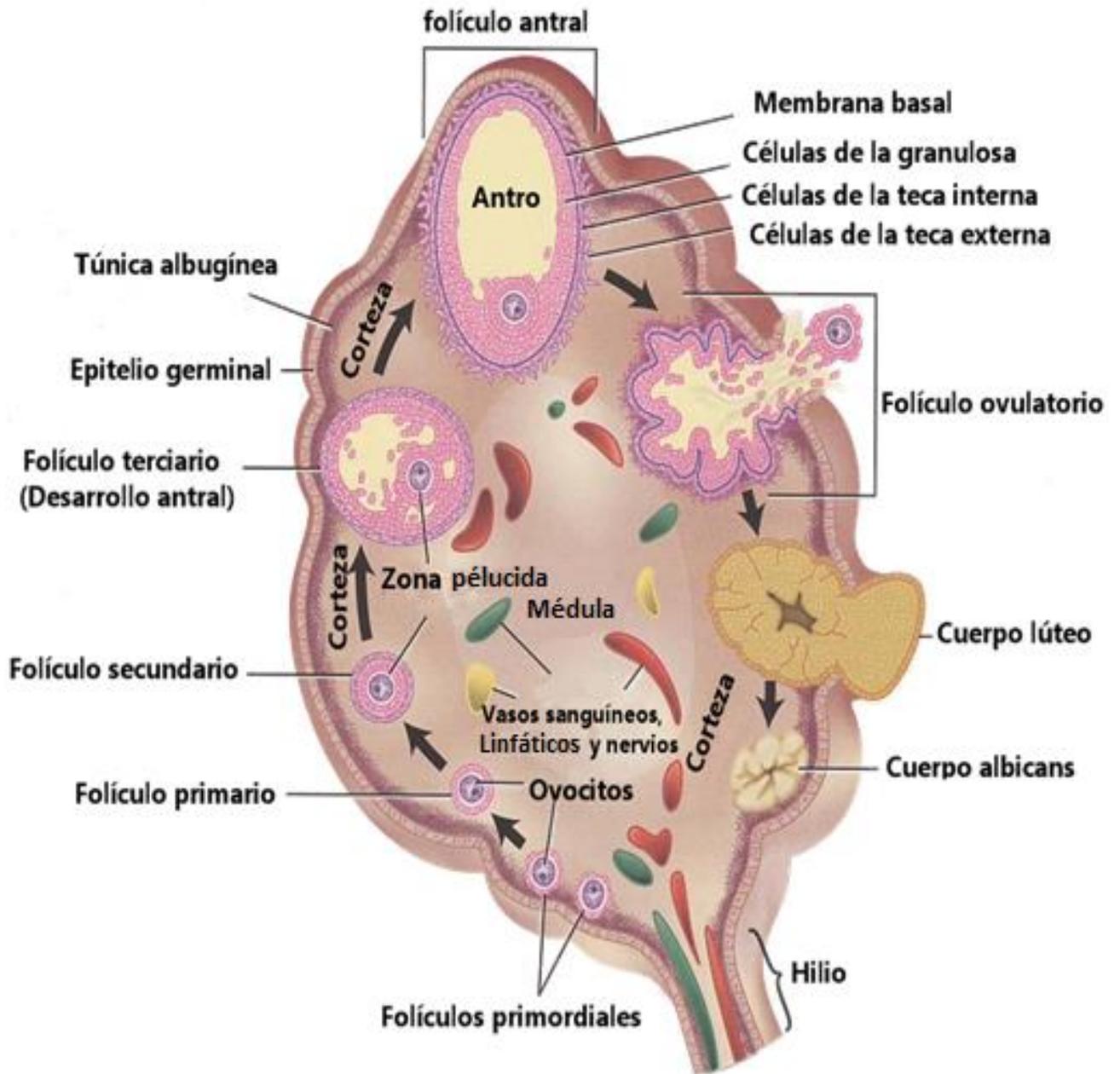


Figura 5. Estructuras principales del ovario. Las formas en color verde y rojo muestran la presencia de venas y arterias respectivamente (Senger, 2003).

2.7. Características del ovario de Oveja y Cabra

El ovario, es una glándula par, derecha e izquierda, situados en un tercio medio de las superficies laterales de la entrada de la pelvis, suspendidos por el mesovario, en la porción craneal del ligamento ancho y conectado al útero por el ligamento ovárico

y, al peritoneo parietal, por el ligamento suspensor del ovario, se localiza a una distancia, desde la comisura ventral de la vulva, de 17.5 cm, aproximadamente. No son palpables por vía rectal, su forma es variable según el estado funcional y el ciclo estral. Generalmente, tiene forma almendrada y distorsionada cuando presenta folículos maduros o cuerpo lúteos (Núñez, 1993). Tamaño 1.5- 2 cm de largo por 1-2 cm de ancho. Peso 3-4 grs. El contacto de la fimbria y el ovario es estrecho en la Oveja y con mayor separación en la Cabra (Núñez, 1993).

2.8. Desarrollo folicular

El ciclo ovárico se caracteriza por patrones de proliferación celular, diferenciación y transformación que acompañan el desarrollo folicular (crecimiento, maduración, ovulación y/o atresia), formación y regresión del CL (Reynolds *et al.*, 1992; Monniaux *et al.*, 1997; Schams y Berisha, 2004). El folículo se considera como la unidad estructural y funcional del ovario; la cual, proporciona condiciones adecuadas para el mantenimiento y desarrollo del oocito, que posterior a la ovulación y fertilización, formará un embrión (Cortvrindt y Smitz, 2001; Findlay *et al.*, 2009). El desarrollo folicular en Oveja, ocurre en forma de ondas u oleadas; por lo general, se observan tres o cuatro oleadas foliculares durante el ciclo estral, es común que la ovulación suceda en la última onda; sin embargo, la ovulación puede ocurrir a partir de la segunda oleada (Evans, 2000).

En la fase lútea existen folículos en desarrollo, los cuales sufren atresia. Los folículos que crecen secretan estradiol (E2); sin embargo, la P4 originada por CL inhibe la secreción pulsátil de (LH) a nivel central, lo que impide maduración folicular y ovulación. Durante la fase folicular, cuando la concentración de P4 disminuye, el E2

es secretado por los folículos en desarrollo, se estimula la secreción pulsátil de LH y se ejerce un sistema de retroalimentación positiva, favoreciendo maduración folicular y la ovulación (Fig. 6; Arroyo *et al.*, 2006).

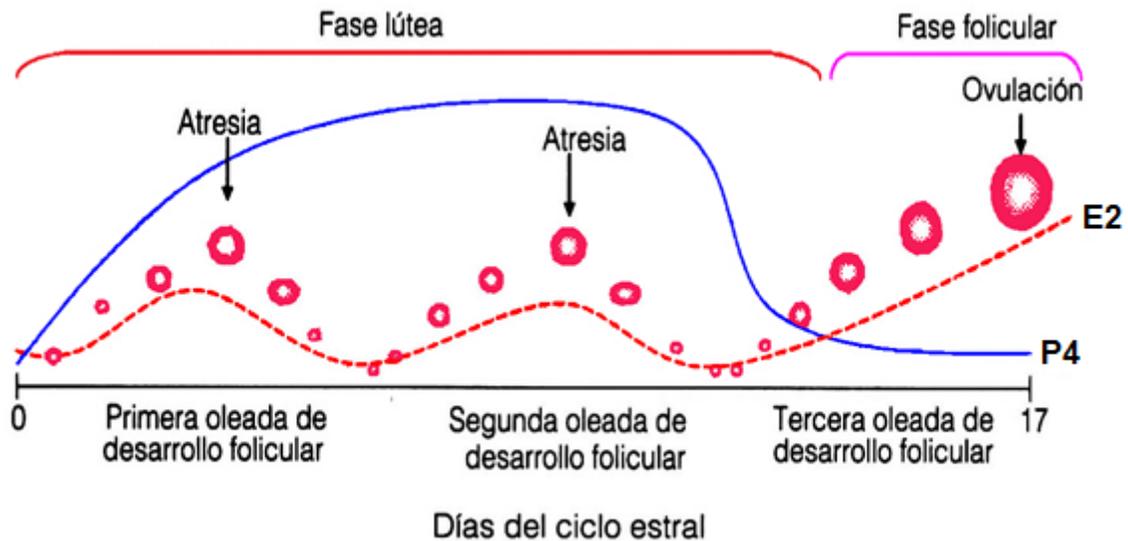


Figura 6. Dinámica folicular durante el ciclo estral, de 17 días, en la Oveja. P4= progesterona, E2= estradiol. (Arroyo *et al.*, 2006).

El desarrollo folicular en la Cabra, al igual que en la Oveja, ocurre en forma de ondas. Cada onda se caracteriza por eventos como: reclutamiento, selección y dominancia (Driancourt, 2001), se presentan de 2-6 ondas, siendo más frecuentes de 3-4, durante el ciclo (Menchaca y Rubianes, 2002; Evans, 2003). En general, el folículo dominante de la última onda, es el que ovula; al igual que en la Oveja los folículos dominantes, a partir de las dos últimas ondas, pueden ovular (Fig. 7) (Evans, 2003).

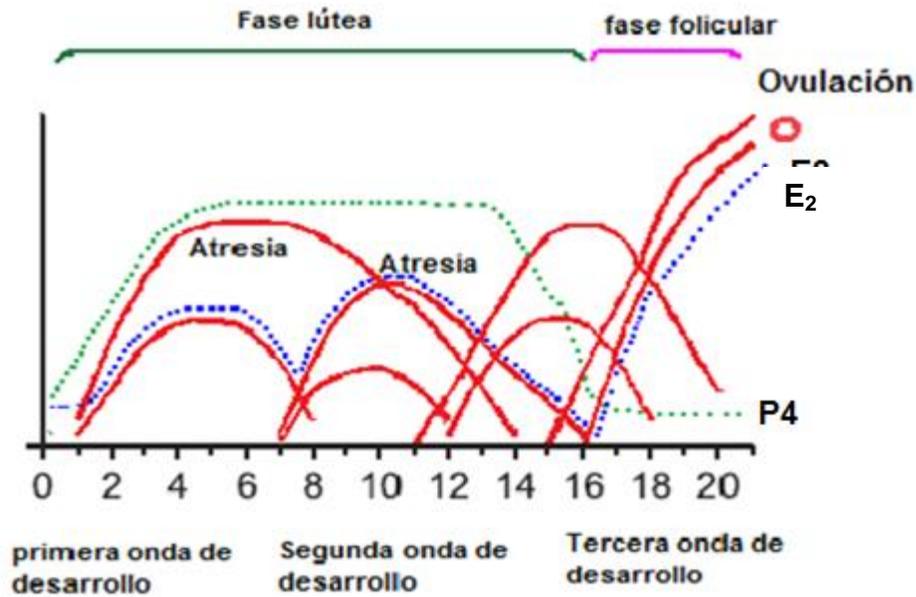


Figura 7. Dinámica folicular durante el ciclo estral de la Cabra (Evans 2003).

2.9. Cuerpo lúteo (CL)

Glándula endocrina transitoria que, formada a partir del folículo, después de la liberación del óvulo (Olivera *et al.*, 2007; Stocco *et al.*, 2007). Que participa en la regulación del ciclo estral y en el mantenimiento de la gestación; en algunas especies resulta indispensable para mantenimiento de la gestación, durante las primeras etapas y, otras, dependen por completo de éste durante toda la gestación (Okuda *et al.*, 2001; Olivera *et al.*, 2007). El CL, está formado por una población heterogénea de células que presentan diferencias en genética, morfología, histología, fisiología y propiedades bioquímicas (Smith *et al.*, 1994) e incluso en el aporte y captación de colesterol necesario para la síntesis de P₄ (Miranda y Murphy, 2007; Miranda *et al.*, 2010). Los tipos de células que se han identificado en CLs son: células lúteas (grandes y pequeñas), células endoteliales, células del músculo liso,

macrófagos, leucocitos, fibroblastos, pericitos, células inmunes y, en ocasiones, se encuentran células plasmáticas. Estas células se encuentran presentes en proporciones diferentes según la etapa del ciclo estral (O'Shea *et al.*, 1979; Alila y Hansel, 1984; Farin *et al.*, 1986; Penny *et al.*, 1999). El CL produce y segrega factores del crecimiento: factor del crecimiento de fibroblastos (FGFs), factor del crecimiento endotelial vascular (VEGF) y un factor similar a la insulina (IGFs). Además, produce óxido nítrico, angiotensina II, endotelina I, estradiol, P4, oxitocina y prostaglandinas, algunas de estas sustancias con actividad vasoactiva o vasosupresora y otras, con actividad endocrina, autocrina o paracrina (Miyamoto *et al.*, 2010).

2.10. Formación de tipos celulares del cuerpo lúteo

El desarrollo del CL se inicia con desencadenamiento de cambios morfológicos y bioquímicos en las células de la teca interna y la granulosa del folículo pre-ovulatorio (Uribe-Velásquez *et al.*, 2011). En el folículo, células de teca producen androstenediona a partir de P4 y células de granulosa, reciben a este metabolito y lo aromatizan para convertirlo en estradiol. Poco antes de la ovulación, durante el pico preovulatorio de LH, las células de la granulosa adquieren la capacidad de producir P4 a partir de colesterol y pierden la capacidad de producir estrógenos, debido a inhibición de la enzima aromatasa, iniciando con ello la luteinización (O'Shea *et al.*, 1979; Reynolds *et al.*, 2000), que inicia con la ruptura de las paredes foliculares y de vasos sanguíneos localizados dentro de la pared folicular, a la primera estructura, resultado de estos cambios se le denomina cuerpo hemorrágico, por su aspecto sanguinolento. El cuerpo hemorrágico se puede observar, en la superficie ovárica,

desde el momento de la ovulación aproximadamente de 1 a 3 días del ciclo estral, según la especie. Alrededor de 3 a 5 días, el CL aumenta de tamaño y pierde su aspecto sanguinolento, el aumento en masa del CL se da hasta la mitad del ciclo y su tamaño máximo coincide con la máxima producción de P4, en la etapa de diestro del ciclo estral. Cerca del final de la fase lútea el CL pierde integridad funcional y disminuye de tamaño, proceso desencadenado por la luteólisis que ocasionará degradación estructural irreversible del CL, hasta convertirse en cuerpo *albicans* y desaparece después de varios ciclos estrales (Senger, 2003).

2.11. Características de las células del cuerpo lúteo

Las células lúteas grandes llegan a ocupar 33-38 % de tejido lúteo y un diámetro de 26-31 μm (micrómetros) en ovino (Farin *et al.*, 1986) y, en Cabras, ocupan 40% del tejido lúteo y diámetro entre 22-50 μm (Sharma y Sharma, 1998), presentan forma esférica, membrana plasmática agudamente plegada, núcleo esférico, abundantes mitocondrias, gránulos lipídicos, abundante retículo endoplásmico liso y contiene retículo endoplásmico rugoso en agregados aislados (Gemmell *et al.*, 1974; Sawyer *et al.*, 1979; Paavola y Christensen, 1981). Presentan pocos receptores para LH (Glass *et al.*, 1985) y abundantes receptores para E2 y PGF_{2 α} (Fitz *et al.*, 1985). Este tipo de células rara vez se multiplican después de la ovulación; sin embargo, aumentan de tamaño (Farin *et al.*, 1986).

Las células lúteas pequeñas de ovino, ocupan un volumen 18-23 % del tejido lúteo, un diámetro 16-18 μm (Farin *et al.*, 1986), mientras que en Cabras, el 20% del CL es ocupado por células pequeñas, con diámetro 12-20 μm (Sharma y Sharma., 1998) con forma de huso, núcleos de forma irregular, gran cantidad de mitocondrias, gotas

lipídicas en el citoplasma, abundante retículo endoplásmico liso, amplio complejo de Golgi (O'Shea *et al.*, 1979; Alila y Hansel, 1984); con gran número de receptores para LH (Fitz *et al.*, 1982). Contrario a células lúteas grandes, estas células aumentan en número pero no en tamaño, durante el desarrollo del CL (Farin *et al.*, 1986).

2.12. Tipos de cuerpo lúteo

2.12.1. Clasificación del cuerpo lúteo de acuerdo a tiempo de vida

Debido a que el CL tiene un tiempo de vida determinado, se pueden distinguir tres fases durante el ciclo: desarrollo, funcional y de regresión. Estas tres se asocian generalmente con niveles plasmáticos de P4, elevados y disminuidos. En mamíferos, el CL se divide en tres categorías según su tiempo de vida: largo, corto ó ultracorto (Stouffer, 2006).

2.12.2. Cuerpo lúteo de vida larga

En este tipo de CL presente en algunas especies monoéstricas, la pérdida de la estructura y función es prolongada aunque no haya ocurrido la gestación. Este tipo de CL lo presentan los carnívoros mamíferos perros, lobos, gatos, zorros y marsupiales entre otros (Stouffer, 2006).

2.12.3. Cuerpo lúteo de vida corta

Los rumiantes domésticos desarrollan CL de vida corta en la primera ovulación que se presenta al llegar a la pubertad y la primera ovulación posparto (Sharpe *et al.*, 1886; Garverick *et al.*, 1992). En animales estacionales como Oveja y Cabra se presentan CL de vida corta al iniciarse la estación reproductiva. Estos CL se caracterizan porque la regresión lútea ocurre entre el día 4 y 6, después de la

ovulación, causada por liberación temprana de PGF2_α desde el endometrio uterino (Zollers *et al.*, 1991; Hernández y Zarco, 1998). Dentro de las características que presenta este tipo de CL es su tamaño y poca secreción de P4 (0.5 ng/ml^{-1} , o menos), responde en menor grado a gonadotropinas y los animales que lo presentan cuentan con una oleada folicular (Yavas *et al.*, 1999). En Ovejas, la concentración sérica de P4 mayor de 0.5 ng/mL^{-1} , disminuye a los 6 días (Beard y Hunter, 1991).

2.12.4. Cuerpo lúteo de vida ultra corta

Las especies que presentan este tipo de CL, no forman CL funcional (roedores) o cualquier otra estructura que formen durante el ciclo ovárico, a menos, que se lleve a cabo el apareamiento y desencadene la ovulación (conejo); otra especie que presentan este tipo de CL, la rata de laboratorio, presenta un ciclo estral de 4-5 días y carece de una verdadera fase lútea (Stouffer, 2006).

2.13. Clasificación del cuerpo lúteo según estructura

2.13.1. Cuerpo lúteo compacto

Estructura aglomerada que no presenta espacio libre en su interior, es formada por, al menos, dos tipos de células esteroideogénicas, diferenciados morfológica y bioquímicamente y puede presentarse en la mayoría de las especies.

2.13.2. Cuerpo lúteo cavitario

Se caracteriza por presencia de cavidad central que contiene líquido, el tamaño de la cavidad es variable, pudiendo disminuirse conforme avanzan los días del ciclo, llegando a desaparecer en algunos casos al final de éste (Kito *et al.*, 1986; Kastelic *et al.*, 1990). Se han realizado diversos trabajos en relación al CL cavitario en vacas,

Ovinos y Cabras reportándose que el tamaño de la cavidad central y el área de tejido lúteo no afecta la producción de P4, por lo consiguiente, no altera la fertilidad (Kito *et al.*, 1986; Kastelic *et al.*, 1990; Grygar *et al.*, 1997; Gonzalez *et al.*, 2000; García y Saladine, 2000; Hernández *et al.*, 2003). Esta estructura no debe verse como una patología (Kito *et al.*, 1986; Kastelic *et al.*, 1990). Diversos autores sugieren que la presencia de esta cavidad puede estar relacionada a causas metabólicas (albumina, calcio, zinc, entre otras; Gabor *et al.*, 2004; Perez-Marin, 2009).

2.14. Clasificación del cuerpo lúteo en base a etapa fisiológica

2.14.1. Cuerpo lúteo de gestación

Este se encuentra presente en las primeras etapas de gestación, ocasionalmente algunas especies lo presentan durante toda la gestación (Bakker y Baum, 2000).

2.14.2. Cuerpo lúteo de ciclo estral

Este tipo de CL lo presentan hembras de especies animales con ciclos ováricos y ovulación inducida por hormonas esteroideas ováricas secretadas a intervalos regulares por ejemplo: rata, cobayo, hámster, Oveja, humano, simio, entre otros (Milligan, 1982; Bakker y Baum, 2000).

2.14.3. Cuerpo lúteo de lactancia

Presente solo en especies que ovulan después del parto y durante el periodo de lactación, como rumiantes: Oveja, Cabra, vaca (Sharpe *et al.*, 1886; Garverick *et al.*, 1992; Yavas *et al.*, 1999).

2.14.4. Cuerpo lúteo de pseudopreñez

Se presenta en el caso de que, por patología el CL no lleva a cabo el proceso de luteólisis, convirtiéndose en CL persistente, produciendo P4, dando apariencia de gestación, este tipo de CL lo presenta regularmente la coneja (Caravaca, 2003).

2.14.5. Función del cuerpo lúteo

La principal función del CL es la regulación de la fase del diestro durante el ciclo estral. Esta glándula esta activa durante un periodo que va desde unos pocos días hasta 2 semanas, dependiendo de la especie (Melampy y Anderson, 1968). Otra de sus funciones es sintetizar y secretar P4, la cual participa en múltiples procesos como reconocimiento materno, adhesión e implantación del embrión, mantenimiento de la gestación, así como regulación de la dinámica folicular (Olivera *et al.*, 2007). Además, secreta en menor cantidad, hormonas y otros productos como: E2, prostaglandinas, relaxina, oxitocina, neurofisina I, vasopresina e inhibida; Fields *et al.*, 1991; Grygar, 1997; Sangha, 2002; Schams y Berisha, 2004; Olivera *et al.*, 2007; Uribe-Velásquez *et al.*, 2011).

2.15. Luteólisis

Proceso por el cual, el CL sufre desintegración o regresión irreversible, se lleva a cabo al final de la fase lútea del ciclo estral y su duración varía según especie (Senger, 2003). La luteólisis normal se produce por dos acontecimientos estrechamente relacionados; en primer lugar, se lleva a cabo la luteólisis funcional, que es la pérdida de la capacidad de sintetizar y secretar P4; en segundo lugar, se registra la luteólisis estructural, que es la involución del CL acompañada de la

pérdida en la integridad de sus células, para formar una pequeña cicatriz compuesta de tejido conectivo fibroso a la que se le denomina cuerpo *albicans* (Hussein, 2005). La regresión lútea se inicia por liberación pulsátil de $PGF2_{\alpha}$ en el endometrio, lo que provoca una cascada de eventos dentro del CL que, en última instancia, conduce a desaparición del tejido (Pate y Keyes, 2001). La función de la $PGF2_{\alpha}$ en la luteólisis es como sustancia vaso-constrictora sobre el endotelio vascular que irriga al CL, por lo tanto habrá menor llegada de nutrientes, oxígeno y colesterol, necesarios para la esteroidogénesis (Niswender *et al.*, 2000).

III. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Identificar la frecuencia, morfología y secreción de P4 *in vitro* en presencia o ausencia de eCG de CL cavitario en Ovinos Productores de Lana, Ovinos Pelibuey y Caprinos.

3.2. Objetivos particulares

- Obtener la frecuencia de cuerpos lúteos cavitarios en Ovinos Productores de Lana, Ovinos Pelibuey y Caprinos.
- Observar las alteraciones en las variables (perímetro mayor, perímetro menor, largo, ancho, grueso y peso) de cuerpos lúteos cavitarios en Ovinos Productores de Lana, Ovinos Pelibuey y Caprinos.
- Medir la concentración de P4 producida *in vitro* por cuerpos lúteos cavitarios y compactos en presencia o ausencia de gonadotropina coriónica equina.
- Observar diferencias en tamaño celular de cuerpos lúteos cavitarios comparándolos con los cuerpos lúteos compactos en cortes histológicos.

IV. HIPÓTESIS

4.1. Hipótesis general

La frecuencia y morfología aunadas a la secreción de P4 y características histológicas de cuerpos lúteos cavitarios son diferentes a los de cuerpos lúteos compactos.

4.2. Hipótesis particulares

- La frecuencia de cuerpos lúteos cavitarios en Ovinos Productores de Lana, Ovinos Pelibuey y Caprinos es diferente con respecto a los cuerpos lúteos compactos.
- La morfología (perímetro mayor, perímetro menor, largo, ancho, grueso, peso) de cuerpos lúteos cavitarios en las dos especies son similares.
- La concentración de P4 de cuerpos lúteos cavitarios de Ovinos Productores de Lana, Ovinos Pelibuey y Caprinos evaluada de forma directa en (cultivo de tejido) con o sin eCG es diferente respecto a los cuerpos lúteos compactos.
- Las características histológicas de cuerpos lúteos cavitarios y cuerpos lúteos compactos son diferentes en Ovinos Productores de Lana, Ovinos Pelibuey y Cabras.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Localización del área de estudio

La fase de laboratorio se realizó en Colegio de Postgraduados, *Campus* Montecillo, ubicado en el km. 36.5 de la carretera México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, Estado de México. Los ovarios base del estudio, fueron obtenidos de rastros ubicados en

Tezoyuca, en la carretera lechería los reyes km 29 y en Capulhuac (Ignacio Allende S/N, esquina con Porfirio Díaz) ambos municipios del Estado de México.

5.2. Recolección de ovarios

Se recolectaron ovarios que presentaron CL de Ovinos Productores de Lana, Ovinos Pelibuey y Cabras. Los ovarios fueron tomados directo de las canales, inmediatamente después del sacrificio, se depositaron en solución salina con 0.01% de antibiótico de amplio espectro (Rofloxacina) y se mantuvieron en hielo para transportarlos a laboratorio, donde se lavaron y limpiaron retirando el exceso de tejido no ovárico.

5.3. Identificación de cuerpos lúteos cavitarios

Se colectaron y evaluaron 81 CLs de Ovinos Productores de Lana, 81 CLs de Ovinos Pelibuey y 81 CLs de Cabras; los cuales, fueron diseccionados y cortados por la mitad con el bisturí, para identificar si el CL presenta o no cavidad central y obtener la frecuencia de CLs cavitarios por especie y raza.

5.4. Características morfológicas de cuerpos lúteos compactos y cavitarios de Ovino productor de Lana, Ovino Pelibuey y Cabras.

Se evaluó perímetro, largo, ancho, grueso y peso de 38 CLs cavitarios y 38 CLs compactos de Ovinos Productores de Lana; con el mismo procedimiento, se evaluaron CLs de Ovinos Pelibuey y Cabras, los cuales fueron diseccionados (Fig. 8) y medidos en su periferia con regla milimétrica de 30 cm; posteriormente, se procedió a medir el largo, ancho y grueso de cada CL (Fig.9); finalmente, se pesó

cada CL compacto o cavitario, con balanza analítica Mettler HK 160 (capacidad 160 g).



Figura 8 Cuerpos lúteos diseccionados y clasificados en base a tamaño.



Figura 9 Medición de cuerpos lúteos, mediante regla graduada Vernier (± 0.01 cm).

5.5. Producción de progesterona *in vitro* de cuerpo lúteo

Se utilizaron 92 muestras de tejido de cuerpo lúteo: 48 CLs cavitarios y 44 CLs compactos, de 0.1g cada uno; los cuales, fueron colocados en tubo de ensayo e incubados con 6 mL de medio de cultivo para mantenimiento celular (el medio de cultivo no se detalla por futura patente) más 0.01% de antibiótico de amplio espectro, el cultivo se mantuvo a 37°C durante 36 hrs; periodo en el cual, se tomaron alícuotas de 1 ml de medio de cultivo en los siguientes horarios: 0 hrs (inicio del cultivo), 15 min, 6 hrs, 12 hrs y 36 hrs.

A ocho CLs cavitarios (Grupo 1) se les adicionó 350 UI de eCG; por otra parte, ocho CLs cavitarios se mantuvieron sin eCG (Grupo 2), como grupo testigo. Similarmente, los CLs compactos se designaron de la misma manera; correspondiendo el grupo tres a CLs compactos con eCG y, sin eCG (Grupo cuatro). Este mismo arreglo de

CLs y aplicación eCG se utilizó para cada una de las especies manejadas en este estudio (Cuadro. 1). Las alícuotas de medio de cultivo fueron conservadas en congelación hasta la evaluación de producción de P4, mediante el método de radioinmunoanálisis (RIA); las cuales, fueron procesadas en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubiran, Departamento de Biología de la Reproducción, Laboratorio de Hormonas Proteicas.

Cuadro 1. Arreglo de tratamientos para la evaluación de producción de P4 en ovarios con cuerpo lúteo cavitario ó compacto en pequeños rumiantes.

Grupo	Especie	Tipo de CL	eCG	N° Repeticiones
1	OL	cavitario	con	8
2			sin	8
3		compacto	con	6
4			sin	6
1	OP	cavitario	con	8
2			sin	8
3		compacto	con	8
4			sin	8
1	Cabra	cavitario	con	8
2			sin	8
3		compacto	con	8
4			sin	8

CL= cuerpo lúteo, eCG =gonadotropina coriónica equina, OL= Ovino Productor de Lana, OP=Ovino Pelibuey.

5.6. Características histológicas de cuerpos lúteos

Los CLs limpios, diseccionados, identificados y clasificados en CLs cavitarios y compactos, se fijaron en paraformaldehído al 4% y se incluyeron en parafina, para realizar cortes histológicos de 5 µm, que fueron colocados en portaobjetos y teñidos con Hematoxilina-Eosina para, finalmente ser observados al microscopio (compuesto óptica axiom 3005) con objetivo 40x, contando las células lúteas que

presentaban los CLs compactos y cavitarios de Ovinos Productores de Lana, Pelibuey y Cabras.

5.7. Análisis estadístico.

5.7.1. Frecuencia de cuerpos lúteos

Se evaluó utilizando estadística descriptiva en CLs que presentaban cavidad central (CL cavitario) y las que no lo presentaban (CL compacto), donde se evaluó un total de 100% de CLs obtenidos al azar de Ovino Productor de Lana, Pelibuey y Cabras y la frecuencia de CLs compactos y cavitarios por especie y raza.

5.7.2. Características morfológicas del cuerpo lúteo

Los CLs cavitarios y compactos de Ovinos Productores de Lana, Pelibuey y Cabras fueron analizados mediante análisis de varianza considerando un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3x2, donde el factor A, son las especies (Ovino Productor de Lana, Pelibuey y Cabras) y, el factor B, los tipos de CL (cavitario y compacto). La comparación de medias se realizó con prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Modelo estadístico

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Y_{ijk} = observación k -ésima del i -ésimo nivel del factor especie y j -ésimo nivel de factor tipo de CL

μ = media general

α_i = efecto del i -ésimo nivel del factor especie

β_j = efecto del j -ésimo nivel del factor tipo de CL

$\alpha\beta_{ij}$ = efecto de las interacciones de los factores especie i con tipo de CL j

ε_{ijk} = error experimental

5.7.3. Concentración de progesterona *in vitro*

La concentración de P4 de los CL (normal y cavitario) de Ovinos Productores de Lana, Ovinos Pelibuey y Cabras fueron evaluadas mediante análisis de varianza considerando un diseño completamente al azar, con arreglo factorial 2x2, donde el factor A, son el tipo de CL (cavitario, compacto) y, el factor B, los tratamientos (con eCG, sin eCG). Los resultados obtenidos se compararon mediante Tukey ($p < 0.05$).

Modelo estadístico

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Y_{ijk} = observación k -ésima del i -ésimo nivel del factor tipo de CL (cavitario, compacto) y j -ésimo nivel de factor tratamientos (con eCG, sin eCG).

μ = media general

α_i = efecto del i -ésimo nivel del factor tipo de CL

β_j = efecto del j -ésimo nivel del factor tratamientos

$\alpha\beta_{ij}$ = efecto de interacciones de factores tipo de CL i con tratamiento j

ε_{ijk} = error experimental

5.7.4. Características histológicas

Las características histológicas de CLs cavitarios y compactos de Ovinos Productores de Lana, Ovinos Pelibuey y Cabras, se evaluaron mediante estadística

descriptiva. El conteo de células lúteas que presentaron cada tipo de CL, compacto y cavitario, se realizó por campos y la información se evaluó mediante un análisis de varianza utilizando un diseño completamente al azar; donde el factor A, son el tipo de CL (cavitario, compacto). La comparación de medias de los resultados se realizó con una prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Modelo estadístico

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

Y_{ij} = Observación j -ésima del i -ésimo nivel del factor tipo de CL (cavitario, normal)

μ = Media general

α_i = Efecto del i -ésimo nivel del factor tipo de CL

ε_{ijk} = Error experimental

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Frecuencia de cuerpos lúteos cavitarios y cuerpos lúteos compactos de Ovino

En Ovinos Productores de Lana se obtuvieron 29/81 CLs cavitarios, representando el 35.80% y 64.19 % (52/81) de CLs compactos. El porcentaje para Ovinos Pelibuey fue de 50.61% (41/81) CLs cavitarios y 49.38 % (40/81) CLs compactos (Fig. 10; Fig. 11).

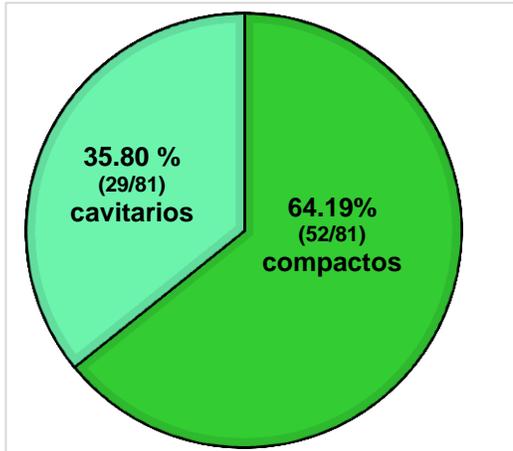


Figura 10. Porcentaje de CLs cavitarios y compactos en Ovinos Productores de Lana.

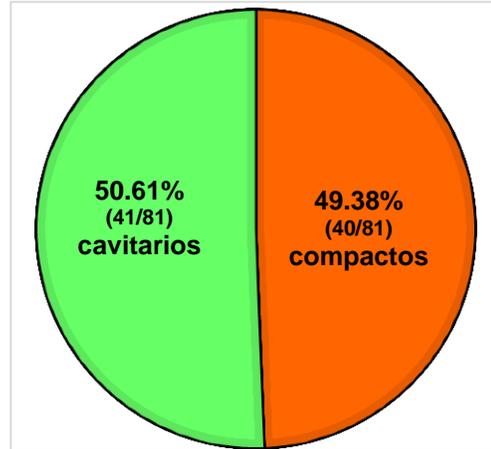


Figura 11. Porcentaje de CLs cavitarios y compactos en Ovinos Pelibuey.

6.2. Frecuencia de cuerpos lúteos cavitarios y cuerpos lúteos compactos de

Cabra

Se evaluó un total de 81 CLs y se obtuvo 60.49% (49/81) CLs cavitarios y 39.50% (32/81) CLs compactos (Fig. 12).

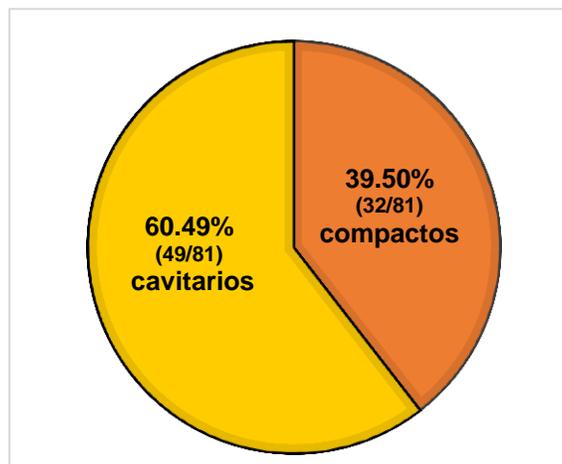


Figura 12. Porcentaje de CLs cavitarios y compactos en Cabra.

Es importante señalar que de las razas de ovino estudiadas en esta investigación, los Pelibuey presentan mayor porcentaje en CLs cavitarios en comparación con Ovinos Productores de Lana. Comparando entre las dos especies (ovinos y Caprinos), las Cabras presentan mayor cantidad de CLs cavitarios. Los resultados encontrados en cuanto al porcentaje de CLs cavitarios son consistentes con González de Bulnes *et al.* (2000), quienes encontraron 33.3% de cavidades centrales en borregas merino español por ultrasonido; por su parte Simões *et al.* (2005), encontraron 78.3% de CLs cavitarios en Cabras, utilizando ultrasonografía transrectal. Hernández *et al.* (2003), reportaron en Cabras, menos de 50% de CLs cavitarios; tanto los resultados reportados por estos autores y los encontrados en nuestra investigación arrojan ligeras variantes; esto, puede deberse a factores como especie, raza, etapa del ciclo estral y técnica de evaluación empleada para su determinación; sin embargo, es importante remarcar que para esta investigación la observación fue directa.

Otra especie estudiada en este mismo aspecto incluye bovino y, al respecto, Kito *et al.* (1986), reportaron 37.2% de CLs cavitarios, evaluando por ultrasonido. García y Salaheddine (2000), reportaron 88,7% de ovarios con cavidades centrales, por medio de ultrasonido. Con el empleo de diferentes técnicas por estos autores, se puede observar que efectivamente la precisión de la técnica o del técnico que realice la determinación influye en el resultado obtenido y reportado.

6.3. Características morfológicas de cuerpos lúteos cavitarios y cuerpos lúteos compactos de ovino

Los CLs cavitarios presentaron menor tamaño ($P < 0.05$) en todas las medidas evaluadas, en comparación con los CLs compactos (Cuadro 2; Cuadro 3).

Cuadro 2. Dimensiones de cuerpos lúteos diseccionados de Ovinos Productores de Lana

CL	PM cm	Pm cm	Peso g	Largo cm	Ancho cm	Grueso cm
Comp	3.3053 ^a	3.2868 ^a	0.5713 ^a	1.1963 ^a	1.0197 ^a	0.8178 ^a
Cavit	2.6553 ^b	2.6579 ^b	0.3562 ^b	0.8897 ^b	0.8089 ^b	0.6115 ^b

CL=cuerpo lúteo, comp= compacto, cavit=cavitario, PM= perímetro mayor, Pm= perímetro menor, cm=centímetros, g=gramos. Medias con letras diferentes en una columna indican diferencias estadísticas (Tukey, $p < 0.05$).

Cuadro 3. Dimensiones de cuerpos lúteos diseccionados de Ovino Pelibuey

CL	PM cm	Pm cm	Peso grs	Largo cm	Ancho cm	Grueso cm
Comp	2.6816 ^a	2.7053 ^a	0.3004 ^a	0.9952 ^a	0.8652 ^a	0.7376 ^a
Cavit	2.4316 ^a	2.2447 ^b	0.1704 ^b	0.8539 ^b	0.7631 ^b	0.6500 ^b

CL= cuerpo lúteo, comp= compacto, cavit=cavitario, PM= perímetro mayor, Pm=perímetro menor, cm=centímetros, grs=gramos. Medias con letras diferentes en una columna indican diferencias estadísticas (Tukey, $p < 0.05$).

6.4. Características morfológicas de cuerpos lúteos cavitarios y cuerpos lúteos compactos de Cabras

Los CLs cavitarios presentaron menor tamaño ($P < 0.05$) en cada una de las medidas evaluadas, en comparación con los CLs compactos (cuadro 4)

Cuadro 4. Dimensiones de cuerpos lúteos diseccionados de Cabra.

CL	PM cm	Pm cm	Peso grs	Largo cm	Ancho cm	Grueso cm
Comp	3.2188 ^a	2.9469 ^a	0.41036 ^a	1.2159 ^a	1.0293 ^a	0.8121 ^a
Cavit	2.5875 ^b	2.3875 ^b	0.15293 ^b	0.9600 ^b	0.8496 ^b	0.6890 ^b

CL= cuerpo lúteo, comp= compacto, cavit= cavitario, PM= periferia mayor, Pm= periferia menor, cm=centímetros, grs= gramos. Medias con letras diferentes en una columna indican diferencias estadísticas (Tukey, $p < 0.05$)

Los CLs cavitarios y compactos de Ovinos Productores de Lana presentan mayor tamaño ($P < 0.05$), en cada una de las medidas evaluadas, mientras que las Cabras presentan tamaño medio siendo los Ovinos Pelibuey los que presentan menor tamaño. (Cuadro 5).

Cuadro 5. Dimensiones de cuerpos lúteos diseccionados de Ovinos Productores de Lana, Pelibuey y Cabras.

CL	Esp	PM cm	Pm cm	Peso grs	Largo cm	Ancho cm	Grueso cm
Comp	OL	3.3053 ^a	3.2868 ^a	0.5713 ^a	1.1963 ^a	1.0197 ^a	0.8178 ^a
Cavit	OL	2.6553 ^b	2.6579 ^b	0.3562 ^b	0.8897 ^b	0.8089 ^b	0.6115 ^b
Comp	C	3.2188 ^b	2.9469 ^{ab}	0.4103 ^b	1.2159 ^a	1.0293 ^a	0.8121 ^a
Cavit	C	2.5875 ^b	2.3875 ^{cd}	0.1529 ^c	0.9600 ^b	0.8496 ^b	0.6890 ^{ab}

Comp	OP	2.6816 ^b	2.7053 ^{bc}	0.3004 ^b	0.9952 ^b	0.8652 ^b	0.7373 ^{ab}
Cavit	OP	2.4316 ^b	2.2447 ^d	0.1704 ^c	0.8539 ^b	0.7631 ^b	0.6500 ^b

CL= cuerpo lúteo, comp=compacto, cavit=cavitario, Esp= especie, OL= Ovino Productor de Lana, OP = Ovino Pelibuey, C= Cabra, PM= periferia mayor, Pm= periferia menor, cm=centímetros, grs=gramos. Medias con letras diferentes en una columna indican diferencias estadísticas ($p < 0.05$).

Como se mencionó, los CL cavitarios son más pequeños que los compactos; mientras que, los Ovino Pelibuey presentan menor tamaño en CLs sin importar si son cavitarios o compactos y que en ovinos, el tamaño del CL difiere dependiendo de la raza. En cuanto a forma de los CLs se observó que ésta va desde casi redonda, sin llegar a serlo, con un botón en la parte superior que corresponde a la porción visible en la superficie ovárica; como fue el caso de la mayoría de CLs provenientes de Ovinos Productores de Lana y Cabras, no obstante, la forma puede variar dependiendo de la cantidad de tejido presente en superficie ovárica; llegando a presentarse forma fúngica como es el caso de los CLs de Ovino Pelibuey (Fig.13).

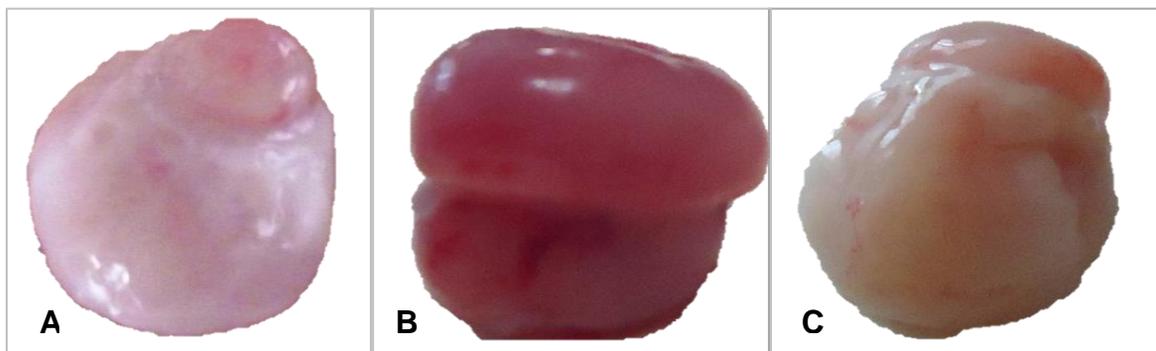


Figura 13. Cuerpos lúteos en Ovinos Productores de Lana, Pelibuey y Cabras. A= Ovino Pelibuey, B= Ovino Productor de Lana, C= Cabra.

La forma de champiñón está otorgada por una parte saliente a la superficie ovárica de mayor tamaño que la de botón, este tipo de CL también presenta una parte central, como de cuello que puede acentuar la forma de champiñón. Con este tipo de

estudio directo comprendido por la disección de los CL se pudo observar de mejor manera la forma del CL que en su mayoría son redondos en las imágenes de ultrasonido y otras basadas en el mismo sistema.

6.5. Producción de progesterona *in vitro* en cuerpos lúteos cavitarios y cuerpos lúteos compactos de ovinos, en presencia o ausencia de eCG

La concentración promedio de P4 *in vitro* de CL compactos y cavitarios no fue diferente ($P>0.05$) (Cuadro 6). La raza si influyo en la producción de P4, siendo los Ovinos Pelibuey los que producen mayor cantidad de esta hormona. También hubo diferencia a 6 y 12 hrs de cultivo en Ovinos Productores de Lana y 6 y 24hrs en Ovinos Pelibuey ($P\leq 0.05$), horarios que coincidieron con la elevación y el pico en producción de P4. La adición de eCG propicio aumento en producción de P4 en CLs compactos de Ovinos Pelibuey ($P\leq 0.05$) (Fig. 14).

Cuadro 6. Concentración promedio de progesterona por 0.1 g de tejido lúteo proveniente de cuerpos lúteos cavitarios y compactos de ovinos, en presencia y ausencia de eCG, incubado durante 36 hrs.

CL	eCG	Conc P4 OL (ng/mL ⁻¹)	Conc P4 OP (ng/mL ⁻¹)
Comp	con	102.39	148.91
Comp	sin	97.9456	119.73
Cavit	con	94.2085	141.05
Cavit	sin	109.36	140.04

CL= cuerpo lúteo, comp= compacto, cavit= cavitario, eCG= gonadotropina coriónica equina, conc=concentración, P4= progesterona, OL= Ovino Productor de Lana, OP= Ovino Pelibuey ($p<0.05$).

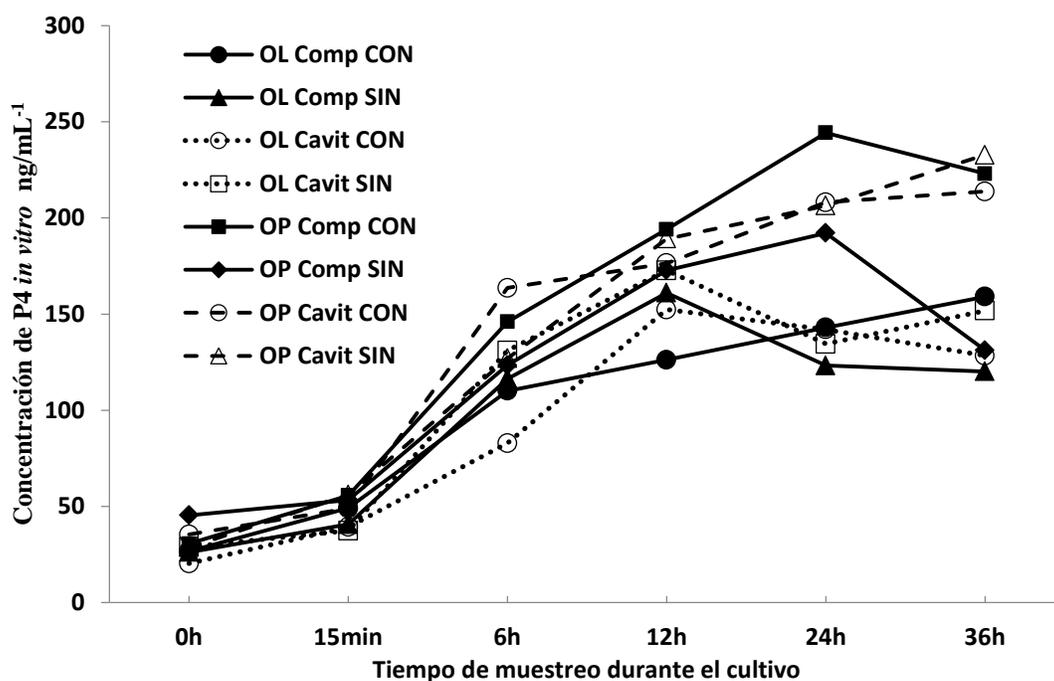


Figura 14. Producción de progesterona *in vitro* de cuerpos lúteos cavitarios y compactos de ovinos en presencia o ausencia de eCG. CL= cuerpo luteo, cavit= cavitario, comp= compacto, OL= Ovinio Productor de Lana, OP= Ovinio Pelibuey, con y sin= presencia o ausencia de eCG. El cultivo se realizó por 36 hrs.

6.6. Producción de progesterona *in vitro* por cuerpos lúteos cavitarios y cuerpos lúteos compactos de Cabra, en presencia o ausencia de eCG

La concentración de P4 *in vitro* de CLs cavitarios y compactos de Cabra no hubo no fue diferente ($P > 0.05$), y la adición de eCG al medio de cultivo propicio disminución en P4 en ambos tipos de CLs ($P > 0.05$) (Cuadro 7 y Fig. 15). En relación al tiempo de cultivo se encontraron diferencias a 6 hrs y 24 hrs ($P < 0.05$) coincidiendo con lo encontrado en Ovinos Pelibuey respecto a producción de P4, en CLs cavitarios y compactos.

Cuadro 7. Concentración promedio de progesterona por 0.1 g de tejido lúteo provenientes de cuerpos lúteos cavitarios y compactos de Cabra en presencia y ausencia de eCG incubado durante 36 hrs.

CL	eCG	Conc P4 (ng/mL ⁻¹)
Comp	con	68.6665
Comp	sin	100.63
Cavit	con	80.8832
Cavit	sin	105.44

CL=cuerpo lúteo, comp=compacto, cavit= cavitario, eCG= gonadotropina coriónica humana, conc= concentración, P4= progesterona (p< 0.05).

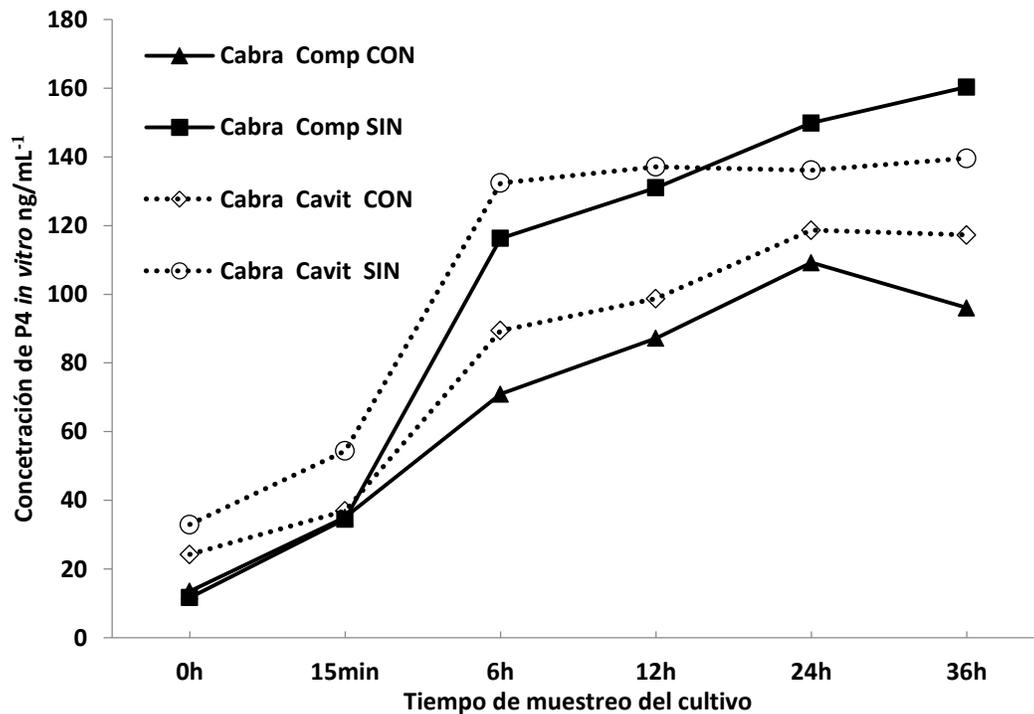


Figura 15. Producción de progesterona *in vitro* de cuerpos lúteos cavitarios y compactos de Cabras, en presencia o ausencia de eCG. CL=cuerpo lúteo, cavit= cavitario, comp= compacto, con y sin: presencia o ausencia de eCG. El cultivo se llevo por 36 hrs.

En el presente estudio no se encontraron diferencias en concentración de P4 en relación al tipo de CL cavitario y compacto. Los Ovinos Pelibuey, por su parte, mostraron mayor concentración de P4 en comparación con Ovinos Productores de Lana y Cabras; los cuales, mostraron una producción de P4, tanto para CLs cavitarios como para CLs compactos, similar a lo reportado por González de Bulnes *et al.*, (2000) quienes evaluaron la concentración de P4 en Ovejas y Simões *et al.*, (2007), en Cabras; quienes indicaron que no hay diferencias en concentración de P4 sérica en relación al tipo de CL.

De igual manera, en bovino, se realizó la evaluación de concentración de P4 tanto en CLs cavitarios como en compactos y no encontraron diferencias en base a tipo de CL (Kito *et al.*, 1986; Kastelic *et al.*, 1990 y Tom *et al.*, 1998). Sin embargo, Okuda *et al.*, (1988) y Grygar *et al.*, (1997), reportaron, en vacas, que los CLs cavitarios contenían mayor tejido lúteo y secreción de P4, en comparación con CLs compactos. En el presente trabajo, al evaluar la concentración de P4 según la especie, los ovinos presentaron producción mayor respecto a Cabras ($P < 0.05$) y la concentración de P4 en cultivo es elevada a 24 hrs, siendo los CLs de Ovinos Pelibuey los que mejor reaccionan al cultivo ($P < 0.05$). Otro punto importante es que la adición de hormona al cultivo presento respuesta diferencial: siendo los CLs compactos de Ovinos Pelibuey los que reaccionan positivamente y, tanto, CLs cavitarios como compactos de Ovinos Pelibuey lo hicieron de forma negativa; esta respuesta puede estar relacionada con los ciclos estrales cortos y con la perdida de embriones y hasta abortos registrados en Cabras que reciben dosis consecutivas de eCG (Córdova *et al.*, 2008). Estos resultados coinciden en que la producción de P4 no

difiere de acuerdo al tipo de CL, no obstante, la respuesta a eCG si es diferencial en raza y tipo de CL.

6.7. Características histológicas de cuerpos lúteos

Con la tinción Hematoxilina y Eosina de preparaciones histológicas de CLs cavitarios y compactos de Ovinos Productores de Lana, Ovinos Pelibuey y Cabras, se observó que los CLs compactos de Ovinos Pelibuey y Cabras presentan mayor número de células por campo, con menor tamaño ($P < 0.05$); mostrando en promedio 25.4 células lúteas en Ovinos Pelibuey y 21.4 células lúteas en Cabras; mientras que, el tamaño celular osciló alrededor $15\mu\text{m}$ para ambas especies.

Por otra parte, los CLs cavitarios de estas mismas especies reportaron menor número de células por campo (Ovino Pelibuey 19 y las Cabras 15 células). En cuanto a tamaño, fue mayor en estos CLs, con promedio de $25\mu\text{m}$ (Fig. 15). Sin embargo, la concentración de P4 al inicio y durante el cultivo no fue diferente respecto a tipo de CL. Esto puede deberse a que CLs cavitarios, a pesar de presentar menor masa, sufren cambios celulares como aumento en tamaño, compensando la falta de tejido y haciendo que las células adquieran mayor cantidad de elementos involucrados en la síntesis de P4. Sin embargo, otro estudio histológico, realizado en vacas, no reportó diferencias en cuanto a tamaño celular, aunque se señalan diferencias en producción de P4 (Okuda *et al.*, 1988), no obstante en este estudio, la P4 no fue evaluada en condiciones de cultivo. Los resultados reportados en el presente trabajo respecto al número reducido de células en CLs cavitarios diverge de lo mencionado por Grygar *et al.*, (1997), quienes reportaron que el área de tejido lúteo en CLs cavitarios de vacas, fue mayor. Si se

considera que área mayor de tejido puede corresponder a mayor número de células, esto no se relacionaría con lo documentado en el presente estudio.

De manera conjunta, estos resultados coinciden en que la producción de P4 no difiere de acuerdo al tipo de CL, no obstante, la respuesta a eCG si es diferencial en raza y tipo de CL. También. Es importante mencionar que el mantenimiento de P4 parece estar compensado por aumento en el tamaño de las células constitutivas de CLs cavitarios. Finalmente, en cuanto a respuesta por especies; CLs de Cabras son de menor tamaño y la presencia de cavidad lo reduce aún más. La adición de eCG resulta en respuesta positiva en ovinos y negativa en caprinos referente a producción de P4.

VII. CONCLUSIONES

La frecuencia de CLs cavitarios varió en relación a especie y raza, de las dos razas de ovinos evaluada, la que presento mayor frecuencia fue Ovinos Pelibuey, y entre especie la Cabra es la que presenta mayor frecuencia.

La forma varia, desde casi redonda, sin llegar a serlo; dada la presencia de una parte que protruye y que le da la forma como de botón localizado en la parte superior del CL, hasta; forma parecida a champiñón por la gran protuberancia que presentan.

Sin importar la especie o raza, los CLs cavitarios son los más pequeños y capaces de mantener concentraciones de P4 *in vitro* similares a los CLs compactos mostrando efecto compensatorio debido al aumento en tamaño de sus células.

La producción de P4 en respuesta a eCG es diferencial en especie, raza y tipo de CL, el tiempo de cultivo también influye en la secreción de esta hormona.

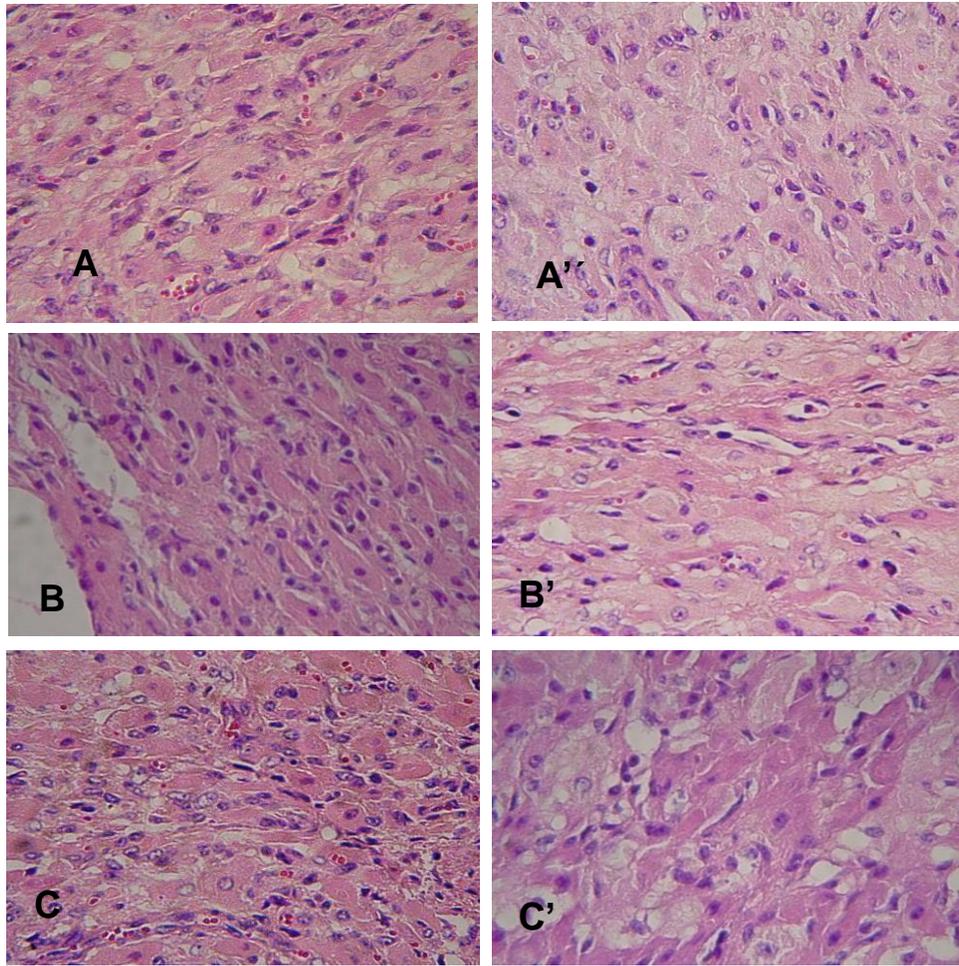


Figura 16. Imagen de cuerpos lúteos compactos y cavitarios (40X), tinción de Hematoxilina y Eosina. CL= cuerpo lúteo, A= CL compacto de Ovino Productor de Lana, A'= CL cavitario de Ovino Productor de Lana, B= CL compacto de ovino Pelibuey, B'= CL cavitario de Ovino Pelibuey, C= CL compacto de Cabra, C'= CL cavitario de Cabra.

VIII. LITERATURA CITADA

- Alila, H. W., W. Hansel. 1984. Origin of different cell types in the bovine corpus luteum as characterized by specific monoclonal antibodies. *Biology of Reprod.* 31: 1015-1025.
- Arroyo, J. 2011. Estacionalidad reproductiva de la Oveja en México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 14: 829-845.
- Arroyo, L. J., J. Gallegos-Sánchez, A. Villa-Godoy, J. M. Berruecos, G. Perera, J. Valencia. 2007. Reproductive activity of Pelibuey and Suffolk ewes at 19° north latitude. *Animal Reprod. Sci.* 102: 24-30.
- Arroyo, L. J., S. J. Gallegos, G. A. Villa, M. J. Valencia. 2006. Revisión Sistemas neurales de retroalimentación durante el ciclo reproductivo anual de la Oveja *Interciencia.* 31(1): 8-15.
- Bakker, J., and M. J. Baum. 2000. Neuroendocrine regulation of GnRH release in induced ovulators. *Front Neuroendocrinol* 21(3): 220–62.
- Barrell, G. K., M. S. Moenter, A. Caraty, J. F. Karsch. 1992. Seasonal changes of gonadotropin releasing hormone secretion in the ewe. *Biology of Reprod.* 46: 1130-1135.
- Beard, A. P., and M. G. Hunter. 1994. Effects of bovine follicular fluid and exogenous oestradiol on the GnRH-induced short luteal phase in anoestrous ewes. *J Reprod. Fertil.* 100: 211- 217.
- Caravaca, R. F. P., G. J. M. Castel, G. J. L. Guzmán, P. M. Delgado, G. Y. Mena, A. M. J. Alcalde, R. P. González. 2003. *Bases de la Reproducción Animal* Editorial Universidad de Sevilla, España. 96p.

- Chemineau, P. 1993. Effect on oestrus and ovulation of exposing Creole goats to the male at three times of the year. *J. Reprod. Fertil.* 67: 65-72.
- Chemineau, P., y Delgadillo J. A. 1993. Neuroendocrinología de la reproducción en el caprino. *Revista Científica.* 3: (2) 113-121.
- Córdovaa, I. A.; M.S. Córdova-Jiménez, C.A. Córdova –Jiménez, J.E. Guerra-Liera. 2008. Procedimientos para aumentar el potencial reproductivo en Ovejas y Cabras. *Rev. Vet.* 19:1, 67-79.
- Cortvrindt, R., and J. Smitz. 2001. *In vitro* follicle growth: achievements in mammalian species. *Reprod. Domestic Animals.* 36: 3-9.
- Driancourt, M. A. 2000. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology.* 55: 1211-1239.
- Evans, A. C. O. 2003. Characteristics of ovarian follicle development in domestic animals. *Reprod. of Domestic Animals* 38: 240–246.
- Evans, A. C. O., P. Duffy, N. Hynes, M. P. Boland. 2000. Waves of follicle development during the estrous cycle in sheep. *Theriogenolog.y* 53: 699-715.
- Evans, N. P., T. A. Richter, D. C. Skinner, J. E. Robinson. 2002 Neuroendocrine mechanisms underlying the effects of progesterone on the oestradiol-induced GnRH/ LH surge. *Reprod. Supp.* 59: 57-66.
- Farin, C. E., C. L. Moeller, H. R. Sawyer, F. Gamboni, G. D. Niswender. 1986. Morphometric analysis of cell types in the ovine corpus luteum throughout the estrous cycle. *Biol. Reprod.* 35: 1299.

- Fatet, A., M. T. Pellicer-Rubio, B. Leboeuf. 2010. Reproductive cycle of goats. *Animal Reprod. Sci.* 124: 211-119.
- Fields, P. A. 1991. Relaxin and other luteal secretory peptides: cell localization and function in the ovary. *In: Familiari G, Makabe S, Motta PM. Eds. Ultrastructure of the Ovary. Kluwer Academic Press Boston.* 77-198.
- Findlay, J. K., J. B. Kerr, K. Britt. 2009. Ovarian physiology: follicle development, oocyte and hormone relationships. *Anim. Reprod.* 6 (1): 16-19.
- Fitz, T. A., M. H. Mayan, H. R. Sawyer, G. D. Niswender. 1982. Characterization of two steroidogenic cell types in the ovine corpus luteum. *Biol. Reprod.* 27: 703-11.
- Gabor, G., F. Toth, M. Mezes. 2004. Preliminary comparison of luteal cavity size with some serum metabolic parameters in dairy cows. 37 th Annual Meeting. The Society for the Study of Reproduction (SSR). University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada 1er to 4th August.
- García, A., and M. Salaheddine. 2000. Ultrasonic morphology of the corpus lutea and central luteal cavities during selection of recipients for embryo transfer. *Reprod. Dom. Anim.* 35: 113-118.
- Garverick, H. A., W. G. Zollers, M. F. Smith. 1992. Mechanisms associated with corpus luteum lifespan in animals having normal or subnormal luteal function. *Anim. Reprod. Sci.* 28: 111-124.
- Gemmell, R. T., B. D. Stacy, G. D. Thorburn. 1974. Ultrastructural study of secretory granules in the corpus luteum of the sheep during the oestrus cycle. *Biol. Reprod.* 11: 447-62.

- Gonzalez de Bulnes, A., M. J. Santiago, B. A. Gómez, S. A. López. 2000. Relationship between Ultrasonographic Assessment of the Corpus Luteum and Plasma Progesterone Concentration during the Oestrous Cycle in Monovular Ewes. *Reprod. Dom. Anim.* 35: 65-68.
- Grygar, I., E. Kudlac, R. Dolezel, J. Nedbalkova. 1997. Volume of luteal tissue and concentration of serum progesterone in cows bearing homogeneous corpus luteum or corpus luteum with cavity. *Anim. Reprod. Sci.* 49: 77-82.
- Hernández, C. J., H.M. Domínguez, J. A. Rodríguez García., C. G. Gutiérrez. 2003. Nota breve Frecuencia de cuerpos lúteos cavitarios y su relación con la fertilidad en Cabras. *Arch. Zootec.* 52: 389-392.
- Hernández, C. J., y Q. A. Zarco. 1998. Función del cuerpo lúteo y muerte embrionaria en rumiantes. *Ciencia Veterinaria.* 8: 1-28.
- Hussein, M. R. 2005. Apoptosis in the ovary: molecular mechanisms. *Human Reproduction Update.* 11(2)162–178.
- Jackson, G. L., D. Kuehl. 2002. Gamma aminobutyric acid (GABA) regulation of GnRH secretion in sheep. *Reprod. Suppl.* 59: 15-24.
- Karsch, F. J., L. E. Bittman, L. D Foster, L. R. Goodman, J. S. Legan, E. J. Robinson. 1984. Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Recent Progress in Hormone Research.* 40: 185-231.
- Kastelic, J. R., Pierson R. A., Ginther O.J. 1990. Ultrasonic morphology of corpora lutea and central cavities during the estrous cycle and early pregnancy in heifers. *Theriogenology.* 34: 487–498.

- Kastelic, J. R., R. A. Pierson, O. J. Ginther. 1990. Ultrasonic morphology of corpora lutea and central cavities during the estrous cycle and early pregnancy in heifers. *Theriogenology*. 34: 487–498.
- Kito, S., K. Okuda, K. Miyazawa, K. Sato. 1986. Study on the appearance of the cavity in the corpus luteum of cows by using ultrasonic scanning. *Theriogenology*. 25: 325- 333.
- Malpoux, B., C. Viguié, D. C. Skinner, J. C Thiéry, P. Chemineau. 1997. Control of the circannual rhythm of reproduction by melatonin in the ewe. *Brain Research Bulletin*. 44: 431-438.
- Melampy, R. M., y L. L. Anderson. 1968. Role of the Uterus in Corpus Luteum Function. *J Animal Sci*. 27: 77-96.
- Menchaca, A., and E. Rubianes. 2002. Relation between progesterone concentrations during the early luteal phase and follicular dynamics in goats. *Theriogenology*. 57: 1411–1419.
- Milligan, S. R., 1982. Reviews Induced ovulation in mammals. *In: Finn CA (ed.) Oxford Reproductive Biology*. 4: 1-46.
- Miranda-Jiménez, L., and B. D. Murphy. 2007. Lipoprotein receptor expression during luteinization of the ovarian follicle. *AJP Endocrinology and Metabolism*. 293(4):E1053-61.

- Miranda-Jiménez, L., M. Binelli, K. Bertolin, R. M. Pelletier, B.D. Murphy. 2010. Scavenger receptor-Bi and luteal function in mice. *J. Lipid Res.* 51(8):2362-2371.
- Miyamoto, A., K. Shirasuna, T. Shimizu, H. Bollwein, D. Schams. 2010. Regulation of corpus luteum development and maintenance: specific roles of angiogenesis and action of prostaglandin (PGF₂α). *Reproduction in Domestic Ruminants VII*. Anchorage, Alaska: Editorial Nottingham University Press. 289p.
- Monniaux, D., P. Monget, N. Besnard, C. Huet, C. Pisselet. 1997. Growth factors and antral follicular development in domestic ruminants. *Theriogenology*. 47: 3-12.
- Niswender, G. D., J. L. Juengel, P. J. Silva, M. Keith Rollyson, E. W. Mcintosh. 2000. Reviews Mechanisms Controlling the Function and Life Span of the Corpus Luteum. *Physiological*. 80 (1):1-29.
- Núñez, M. Q. 1993. Morfología del tracto genital de los pequeños rumiantes. *FCV-LUZ* 3 (2): 1-10.
- O'Shea, J. D., D. G. Cran, M. F. May. 1979. The small luteal cell of the sheep. *J. Anat.* 128: 239-251.
- Okuda, k., S. kito, N. Sumi, k. Sato. 1988. A study of the central cavity in the bovine corpus luteum. *The Veterinary Record*. 180-183.
- Okuda, K., Y. Uenoyama, B. Berisha, I. G. Lange, H. Taniguchi, S. Kobayashi, S. Kobayashi, A. Miyamoto, D. Schams. 2001. Estradiol-17b is produced in bovine corpus luteum. *Biology of Reprod.* 65: 1634-1639

- Olivera, A. M., M. A. Tarazona, C. T Ruíz, E. C. Giraldo. 2007. Vías implicadas en la luteólisis bovina. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 20: 387-393.
- Ortavant, R., J Pelletier, J. P. Ravault, J. Thimonier, P. Volland-Nail. 1985. Photoperiod main proximal and distal factor of the circannual cycle of reproduction in farm animal. *Oxford Rev. Reprod. Biol.* 7: 562–71.
- Paavola, L. G., and A. K. Christensen. 1981. Characterization of granule types in luteal cells of sheep at the time of maximum progesterone secretion. *Biol. Reprod.* 25: 203-215.
- Palacios, R. C., y L. Blanco. 2000. Comunicado Presentación del ovario y del útero en el ciclo sexual de la Oveja, obtenida por grabación en video vía laparoscopia. *Reproducción.* 25: 575-580.
- Pate J. L., and P. L. Keyes. 2001. Review Immune cells in the corpus luteum: friends or foes. *Reproduction.* 122: 665–676.
- Penny, L. A., D. Armstrong, T. A. Bramley, R. Webb, R. A. Collins, E. D. Watson. 1999. Immune cells and cytokine production in the bovine corpus luteum throughout the oestrous cycle and after induced luteolysis. *J. Reprod. & Fert.* 115: 87-96.
- Perez-Marin, C. 2009. Formation of corpora lutea and central luteal cavities and their relationship with plasma progesterone levels and other metabolic parameters in dairy cattle. *Reprod. Dom. Anim.* 44: 384–389.
- Reynolds, L. P., A. T. Grazul-Bilska, D. A. Redmer. 2000. Angiogenesis in the corpus luteum. *Endocrine* 12:1-9.

- Reynolds, L. P., S. D. Killilea, D. A. Redmer. 1992. Angiogenesis in the female reproductive system. *The FASEB J.* 6: 886–892.
- Sangha, G., R Sharma, S. Guraya. 2002. Biology of corpus luteum in small ruminants. *Small Ruminants Research.* 43 (1): 53-64.
- Sawyer H. R., J. H. Abel., J. R. M. C. McClellan, M. Schmitz, G. D. Niswender. 1979. Secretory granules and progesterone secretion by ovine corpora lutea *in vitro*. *Endocrinology.* 104: 476-86.
- Schams, D., and B. Berisha. 2004. Regulation of corpus luteum function in cattle an overview. *Reprod. Dom. Anim.* 39: 241-251.
- Senger P.L. 2003. The organization and function of the female reproductive tract: Pathways to Pregnancy and Parturition. 2nd edition. Current conceptions, Inc. Washington State University. pp: 25.
- Sharpe, P. H., P. E. McKibbin, B. D. Murphy, J. G. Manns. 1986. First postpartum ovulation and corpora lutea in ewes which lamb in the breeding season. *Anim. Reprod. Sci.* 10: 61 -74.
- Simões, J., Potes J., Azevedo J., Almeida J. C., Fontes P., Baril G., Mascarenhas R. 2005. Morphometry of ovarian structures by transrectal ultrasonography in Serrana goats. *Animal Reprod. Sci.* 85: 263-373.
- Smith, M. F., E. W. McIntush., G. W. Smith. 1994. Mechanisms associated with corpus luteum development. *J of Animal Sci.* 72: 1857-1872.
- Stocco, C., C Telleria, Gibori G. 2007. The molecular control of corpus luteum formation, function, and regression. *Endocr. Rev.* 28: 117-149.

- Stouffer, R. L., 2006. Structure, Function, and Regulation of the Corpus Luteum. Physiology of Reproduction. United States of America: Editorial. Elsevier Inc. pp: 475-526.
- Thiéry J. C., and G. B. Martin. 1991. Review Neurophysiological Control of the Secretion of Gonadotrophin-releasing Hormone and Luteinizing Hormone in the Sheep. *Reprod. Fertil. Dev.* 3: 137-173.
- Tom, J. W., Pierson R. A., Adams G. P. 1998. Quantitative echotexture analysis of bovine corpora lutea. *Theriogenology*. 49: 1345-1352.
- Uribe-Velásquez, L. F., O. J. Henry., O. A. Correa. 2011. Cuerpo lúteo: Una visión inmunológica. *Biosalud*. 10(2): 87-100.
- Urroz, C. 1991. Elementos anatomía y fisiología animal. 1ª edición. Editorial: EUNED. Costa Rica. pp: 203-205.
- Vera, G. T. 1993. Reproducción del ganado caprino. Universidad Autónoma de Nuevo León. Centro Regional de Fomento Agropecuario. pp: 9.
- Yavas, Y., W. H. Johnson., J. S. Walton. 1999. Modification of follicular dynamics by exogenous FSH and progesterone, and the induction of ovulation using hCG in postpartum beef cows. *Theriogenology*. 52 (6): 949-963.
- Zollers, W. G. J. R., H. A. Gavervick, R. S. Youngquist, J. S. Ottobre, R.W. Silcox, J.P. Copelin, M.F. Smith. 1991. *In vitro* secretion of prostaglandin from endometrium of postpartum beef cows expected to have short or normal luteal phases. *Biol. Reprod.* 44: 522- 526.