

## Consideraciones sobre la dinámica ovárica en equino, bovino y camélidos sudamericanos

GIGLI, I; RUSSO, A.; AGÜERO, A.

### RESUMEN

La ovogénesis y foliculogénesis son los procesos en conjunto de formación y desarrollo del ovocito y del folículo respectivamente. El folículo constituye la unidad estructural y funcional de los ovarios. Se clasifican en primordiales, primarios, secundarios y terciarios de acuerdo a las características histológicas de las células de la granulosa que rodean al ovocito y al grado de maduración del mismo. Durante la vida fetal se produce la diferenciación de los folículos primordiales. Algunos folículos comienzan a diferenciarse en primarios y secundarios debido a que la primera activación folicular es en principio gonadotrófica independiente. La activación de los folículos terciarios ocurre en forma de ondas y es gonadotrófica dependiente. Varios folículos comienzan a crecer simultáneamente hasta que uno de ellos se diferencia en dominante y los otros se atresian. Si bien la foliculogénesis es un proceso bastante conservado entre los mamíferos existen características diferentes según las especies. Las bases endocrinológicas de la dinámica ovárica son similares con algunos cambios según las especies. Una excepción la constituye la hormona melatonina. Esta última inhibe o estimula la liberación de GnRH según se trate de una especie fotoperiódica positiva o negativa. En esta recopilación bibliográfica se pone énfasis en tres especies distintas que son ejemplos del proceso de foliculogénesis y ovulación en tres modelos biológicos diferentes. La yegua se caracteriza por presentar una foliculogénesis estacional y por ser la única especie que puede presentar ovulaciones diestrasales. En el bovino las ondas foliculares se observan durante todo el año y en diferentes estados fisiológicos como el período prepuberal, ciclo sexual, preñez y el período posparto. Puede presentar hasta tres ondas foliculares durante el ciclo estral. Los camélidos sudamericanos también responden al modelo de ondas foliculares caracterizándose por ser una especie de ovulación inducida. Es decir que la LH no aumenta en cada ciclo sino que solamente se produce el pico necesario para desencadenar la ovulación bajo un estímulo natural producido por la monta o artificialmente por la administración de hormonas (hCG y GnRH).

*Palabras clave:* (ovario), (foliculogénesis), (ovogénesis), (ovulación), (luteólisis), (equinos), (bovinos), (camélidos sudamericanos).

Área de Teriogenología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. Chorroarín 280. 1427 Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. E-mail: aguero@fvet.uba.ar

InVet. 2006, 8(1): 183-204  
ISSN(papel): 1514-6634  
ISSN (on line) 1668-3498

183

### **Foliculogénesis**

El folículo es la unidad estructural y funcional de los ovarios. La foliculogénesis se define como el proceso de formación, crecimiento y diferenciación folicular. Abarca desde el estadio de folículo primordial hasta el de folículo preovulatorio. Si bien este proceso está muy conservado entre los mamíferos, existen particularidades en cada especie que se irán detallando a lo largo del texto.

### **Ovogénesis**

La ovogénesis es el proceso de formación y desarrollo del ovocito. Comienza con las ovogonias, que derivan de las células germinales primordiales en el embrión y culmina con la formación del ovocito II. Las células germinales primordiales se diferencian del epitelio del saco vitelino durante el desarrollo embrionario, migran a través del mesenterio y colonizan las gónadas primitivas del mesonefro. Se conectan unas a otras por puentes intercelulares y finalmente se diferencian en ovogonias. Las ovogonias se dividen por mitosis antes de comenzar la meiosis. El número de divisiones mitóticas que ocurre durante el desarrollo embrionario es especie-específico. Las ovogonias se diferencian en ovocitos cuando comienzan la meiosis. En embriones de ratón la división por mitosis comienza alrededor del día 14-16 de gestación y culmina el día 20, dando lugar a la división meiótica. En el bovino se observan figuras meióticas a partir del día 82 de gestación<sup>49</sup>. En el equino, la multiplicación de las ovogonias por mitosis comienza alrededor del día 50 de gestación y continúa hasta el día 150-160<sup>14</sup>. A partir del día 102 se observan en el ovario de embrión equino todos los estadios de división meiótica si bien son pocos los folículos primordiales que se forman, ya que la mayoría de los ovocitos I degeneran antes de rodearse de las células de la

granulosa<sup>14</sup>. Una característica particular de la especie equina es el incremento del tamaño de las gónadas fetales entre el tercer y noveno mes de gestación debido a la hiperplasia e hipertrofia de las células intersticiales secretoras de hormonas esteroides<sup>36</sup>.

Los **ovocitos I** que logran alcanzar el estadio de folículo primordial quedan detenidos en la profase I. La meiosis recién se reinicia en los folículos preovulatorios bajo el estímulo de la LH como se verá más adelante. El factor limitante en la reproducción es la disponibilidad de ovocitos, ya que una vez determinado el conjunto de folículos primordiales, queda establecida la reserva gametogénica. Un mayor conocimiento sobre los mecanismos de activación inicial permitiría obtener mayor cantidad de ovocitos para fecundación in vitro y para implementar métodos de activación folicular in vivo. En 1996, Eppig y O'Brien, lograron obtener un ratón vivo a partir del cultivo in vitro de folículos primordiales abriendo nuevos desafíos a la biotecnología de la reproducción.

### **Fases del desarrollo folicular**

Las células pre-granulosas, derivadas del epitelio ovárico<sup>51</sup>, se diferencian en células granulosas, rodeando a los **ovocitos I** quedando así formados los **folículos primordiales**. Estos se caracterizan histológicamente por el ovocito I detenido en la profase de su primera división meiótica (diploteno) rodeado por una capa plana de células de la granulosa. Estos folículos forman la reserva gametogénica o «población de folículos de reserva» que una hembra va a utilizar en toda su historia reproductiva. Es a partir de esta población «estática y durmiente» que se origina toda la población de folículos en crecimiento. Se estiman entre 36.000-46.000 folículos primordiales en el ovario de

potrancas<sup>28</sup>. En el bovino se ha estimado la presencia de 42.00-325.000 folículos primordiales. La mayoría se atresian antes de adquirir las condiciones de folículo preovulatorio. Recientemente Johnson et al (2004) demostraron la presencia de células germinales en ovario de ratón luego de su nacimiento poniendo en duda el concepto de reserva gametogénica con el que se ha descrito tradicionalmente al conjunto de folículos primordiales.

Las células planas de la granulosa antes de comenzar a dividirse por mitosis se diferencian en una capa de células de forma cúbica que rodea al ovocito I. Cuando esto sucede los folículos se clasifican en **folículos primarios**. En esta etapa el ovocito comienza a rodearse de una capa celular amorfa de glicoproteínas denominada zona pelúcida. Las células de la teca interna comienzan a rodear por fuera a las células de la granulosa.

Las células de la granulosa aumentan de tamaño y número y se denomina **folículo secundario** al ovocito I rodeado por varias capas de células de la granulosa. Las células tecales se diferencian en una capa externa y otra interna rodeando por fuera a las células de la granulosa. Hasta este estadio los folículos se clasifican en **preantrales** debido a que aún no se ha formado la cavidad antral.

Los **folículos terciarios o folículos antrales** se caracterizan histológicamente por la presencia de la cavidad antral y por estar rodeados de varias capas cúbicas de células de la granulosa que comienzan a secretar un trasudado que se denomina líquido folicular, que al acumularse produce un reordenamiento de las mismas en células del cúmulo y murales. Este trasudado comienza en el equino en folículos de 0,2 a 0,4 mm<sup>28</sup>. En este estadio las características histológicas son la presencia de la teca interna constituida por tejido conectivo

y la teca externa formada por una capa de colágeno atravesada por capilares con miofibroblastos diferenciados de los fibroblastos del estroma. A nivel molecular se caracterizan por una mayor expresión de receptores para FSH en las células de la granulosa. Las células de la teca expresan receptores para LH. Como se explicará más adelante, los folículos terciarios se clasifican en dominantes y subordinados. Los folículos dominantes, a diferencia de los subordinados, expresan en las células de la granulosa además de los receptores para FSH, receptores para LH.

Los **folículos preovulatorios o folículos de De Graaf**, en honor a quien fue el primer científico en examinar ovarios humanos en 1672, tienen la capacidad de responder al estímulo de la LH produciendo cambios morfológicos y bioquímicos que finalizarán reiniciando la meiosis y desencadenando la ovulación. Todos estos cambios se desarrollarán más adelante al describir los mecanismos implicados en la ovulación. En la yegua el folículo preovulatorio es mayor a 35 mm<sup>28</sup>, en la vaca entre 10 a 20 mm<sup>60</sup> y en la llama entre 10 a 18 mm<sup>13</sup>.

### Endocrinología de la foliculogénesis

La actividad de los ovarios está regulada por la interacción de mecanismos endocrinos sistémicos y factores locales (paracrinós-autocrinos). El hipotálamo libera GnRH que de acuerdo al patrón de secreción, produce los mecanismos moleculares necesarios para la liberación de FSH (hormona folículoestimulante) y LH (hormona luteinizante) de la hipófisis. Los folículos se desarrollan hasta el estadio antral sin requerir de las hormonas gonadotróficas. En la yegua los folículos pueden crecer hasta 2 mm en ausencia de FSH. Es decir, que la activación inicial de folículos primordiales como se

detallará más adelante es gonadotrófica independiente y comienza en la vida fetal.

Se describen a continuación las hormonas que participan en el desarrollo folicular:

**Hormona de liberación de gonadotrofinas (GnRH):** El hipotálamo es el órgano encargado de convertir las señales neurológicas originadas en estímulos externos e internos en descargas hormonales. Uno de sus productos es la hormona GnRH. Los científicos Guillemin, Schally y Yallow en 1977 recibieron el Premio Nobel por el descubrimiento y la caracterización de este péptido de tan sólo 10 aminoácidos que marcó un hito importantísimo en la biología reproductiva. Luego de ser secretada, la GnRH es acumulada en la eminencia media hasta que se produce la despolarización neuronal. Como respuesta al estímulo adecuado, la GnRH entra a capilares fenestrados y llega a la hipófisis vía vasos portales. Según los pulsos liberados se secreta como respuesta FSH o LH<sup>8</sup>.

La GnRH está regulada por la secreción endógena de diversas hormonas encontrándose entre ellas la melatonina. Esta última se libera por estímulo de la oscuridad. Es decir, que un impulso nervioso percibido por la retina se transforma en liberación de melatonina desde la glándula pineal. Por lo tanto, la cantidad de horas luz influye en la secreción de GnRH en las especies fotoperiódicas. Las especies animales cuyo ciclo reproductivo se encuentra afectado por las horas luz, se clasifican en fotoperiódicos positivos y fotoperiódicos negativos. Las especies fotoperiódicas positivas, como la equina, el aumento de las horas luz, ya sea en forma natural o artificial, produce una disminución de la liberación de melatonina, permitiendo la liberación de GnRH y estimulando la biosíntesis de FSH y LH. Es decir, que en especies con gestaciones prolongadas, como la equina, la melatonina

inhibe el eje hipotálamo- hipófisario- gonadal determinando que la temporada reproductiva sea primavera- verano. En cambio, en las especies con gestaciones cortas (oveja, cabra), la melatonina estimula el eje hipotálamo- hipófisario- gonadal estableciendo que la temporada reproductiva sea otoño- invierno. Este mecanismo evolutivo permite que los animales centralicen las pariciones durante la primavera-verano.

**Hormonas Gonadotróficas:** La hormona folículo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH) son glicoproteínas producidas por la hipófisis. Al igual que la hormona gonadotrofina coriónica equina (eCG) y la tirotrofina (TSH), están formadas por la unión de las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$ . La subunidad  $\alpha$  es específica de especie y es idéntica en las otras hormonas glicoproteicas mencionadas. La subunidad  $\beta$  determina la función biológica de cada hormona.

**Hormona folículo estimulante (FSH):** La FSH es necesaria para el reclutamiento de folículos antrales. Las células de la teca interna de los folículos terciarios responden al estímulo de la FSH produciendo andrógenos y estimulando la activación de la enzima aromatasa en las células de la granulosa y transformando a los andrógenos en estradiol. La FSH también está involucrada en el aumento de la vascularización del folículo dominante. El aumento de la irrigación permite una mayor obtención de nutrientes. Bajo la influencia de la FSH, las células de la granulosa se dividen por mitosis incrementando las capas que rodean al ovocito I y aumentando el tamaño folicular. La FSH junto con el estradiol estimulan la formación de la cavidad antral y la expresión de receptores para LH en las células de la granulosa del folículo preovulatorio. La FSH también cumple un rol en el proceso de ovulación al estimular la secreción del activador del plasminógeno por

parte de las células de la granulosa (ver mecanismo de la ovulación). En la yegua la secreción de FSH puede ser uni o bimodal. El patrón bimodal se observa solamente en el período de transición de primavera y al inicio de la temporada reproductiva, describiendo un patrón unimodal en plena temporada reproductiva. Cuando la FSH presenta el patrón bimodal, su concentración en plasma tiene un primer pico al final del estro y un segundo pico en la mitad del diestro. En el patrón unimodal estaría ausente el primer aumento <sup>8</sup>.

**Hormona luteinizante (LH):** La función de la LH es reiniciar la meiosis en el folículo preovulatorio, desencadenar la ovulación y controlar el desarrollo y mantenimiento del cuerpo luteo (CL). Ejerce su acción uniéndose a receptores de membrana en las células de la granulosa y teca del folículo preovulatorio. Produce un aumento de AMPc vía adenil ciclasa, estimulando la conversión de colesterol en pregnenolona y desencadenando los sucesos de la ovulación que se detallarán más adelante. La LH en la yegua tiene una concentración mayor de carbohidratos y de ácido siálico que en otras especies. Otro aspecto característico de la yegua, es que al medir la hormona periféricamente no se observan los pulsos de liberación debido a la mayor vida media de la hormona y debido a que además de la liberación pulsátil se produce una liberación tónica. La concentración de LH es baja durante la mitad de la fase luteal, aumenta pocos días antes del estro y alcanza su mayor concentración en plasma generalmente un día después de producida la ovulación.

**Sistema del factor de crecimiento tipo insulínico (IGF):** Estos factores se denominan así por tener una secuencia de aminoácidos muy similar a la insulina. Son producidos por las células de la granulosa y teca<sup>60</sup> y son quizás los factores intraováricos mejor caracterizados. En

el ovario se han identificados el IGF-I y el IGF-II. La acción se encuentra regulada por un sistema formado por 6 proteínas, IGFBP (siglas en inglés de proteínas de unión del factor de crecimiento tipo insulínico). En el ovario se han descrito solamente las proteínas 2 y 4<sup>42</sup>. Estas proteínas modulan la acción del IGF impidiendo la unión a sus receptores, ya que únicamente el IGF libre tiene acción biológica. La acción del IGF consiste en estimular la proliferación de las células de la granulosa, la síntesis de hormonas esteroideas y también la producción de inhibinas y activinas. En otras palabras, amplifica la respuesta desencadenada por la FSH. La acción de IGF está regulada por la enzima proteolítica PAPP-A, por sus siglas proteína plasmática asociada a la preñez, ya que aumenta la bioactividad de la IGF al degradar las proteínas de unión. Gerard et al. 2004, describen en la yegua un aumento de esta enzima proteolítica en folículos preovulatorios mayores de 35 mm. Es decir que los folículos dominantes tienen mayor bioactividad de IGF traduciéndose en una mayor respuesta del estímulo de FSH.

**Familia de factores transformadores de crecimiento (TGF):** Los miembros de esta superfamilia, integrada por más de 40 proteínas, regulan la proliferación y diferenciación en una amplia variedad de tejidos. Actúan a través de señales intracelulares que activan la cascada serina-treonina quinasa resultando en la translocación de proteínas desde el citoplasma al núcleo celular. Dentro de estos factores se encuentra los TGF $\beta$  (para una revisión ver Peralta-Zaragoza et al. 2001), **el factor de crecimiento y diferenciación 9 (GDF-9), la hormona antimülleriana (AMH), activinas, inhibinas y la proteína morfométrica ósea (BMP)**. Se han descrito más de 40 BMP en diferentes tejidos recibiendo este nombre por haber sido identificadas primero en hueso. En el folículo, han sido identificados los factores

de crecimiento y diferenciación 9 (GDF-9), proteína morfométrica ósea 15 (BMP-15) y proteína morfométrica ósea 6 (BMP-6)<sup>34</sup>. En las células tecales de folículos preantrales y antrales se identificó la proteína morfométrica ósea 4 (BMP-4) y la 7 (BMP-7) (para una revisión ver Pangas and Matzuk, 2004). Las células granulosa de folículos primarios y secundarios producen AMH y expresan receptores para AMH<sup>17</sup>.

Las inhibinas y activinas son producidas por las células de la granulosa del folículo dominante. Están formadas por la unión de las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$ . La unión de la subunidad  $\alpha$  con la subunidad  $\beta$ A, forma la inhibina A. La unión de la subunidad  $\alpha$  con la  $\beta$ B, forma la inhibina B. En cambio la unión de dos subunidades  $\beta$ A o dos subunidades  $\beta$ B dan lugar a la hormona activina (activina A ó B de acuerdo a que subunidades la conforman). Tanto las inhibinas como las activinas actúan en forma paracrina, inhibiendo o estimulando el crecimiento de los folículos subordinados respectivamente. Las inhibinas además actúan en forma sistémica inhibiendo la secreción de FSH a nivel de la hipófisis. La secreción de las inhibinas es estimulada por la FSH formando así un circuito de regulación<sup>33</sup>.

**Producción folicular de estradiol:** La regulación de la secreción de estradiol ha dado lugar al modelo conocido como «dos células dos gonadotropinas». Las células de la teca interna producen andrógenos a partir de colesterol por estímulo de la LH. Los andrógenos difunden a las células de la granulosa. La FSH se une a sus receptores en las células de la granulosa y produce el aumento de la enzima aromatasas. Esta enzima convierte a los andrógenos en estradiol. Es decir, que las células de la teca interna y granulosa actúan en forma conjunta para lograr la síntesis de estradiol (regulación paracrina).

### Activación y ondas foliculares

La activación folicular se divide en dos etapas diferentes. La primera se denomina **activación inicial** y la segunda **activación de folículos antrales**. La inicial abarca la diferenciación de folículos primordiales hasta folículos terciarios. Tanto la activación inicial como el crecimiento hasta la formación del antro es gonadotrófico independiente, es decir que no depende de las concentraciones séricas de FSH y LH como se ha mencionado anteriormente. Aún no se ha podido determinar cual o cuales son los mecanismos que determinan el momento preciso en que un grupo de folículos primordiales comienzan a diferenciarse y a crecer. Durlinger et al. (2002) observaron que la reserva ovárica de folículos primordiales en ratones modificados genéticamente para que no expresen el gen que codifica la hormona anti-mulleriana (AMH), se agota más rápidamente que en ratones normales. Estos resultados junto con otros trabajos que evaluaron la activación de folículos preantrales en bovinos y ratones<sup>26</sup> sugieren que la AMH secretada por las células granulosa de folículos primarios, tendría como función inhibir la activación de folículos primordiales. Actualmente, la hipótesis más aceptada sugiere que la regulación de la activación folicular está dada por la interacción de factores inhibidores (por ejemplo AMH) y factores activadores (como MBP15<sup>24</sup>, GDF-9<sup>58</sup>, y Kit ligand<sup>16</sup>). Cuando predominan estos últimos, un grupo de folículos primordiales abandona el grupo de folículos inactivos y comienza el proceso de diferenciación.

Los folículos preantrales pueden quedar retenidos en su crecimiento por largos períodos hasta que ocurre la segunda activación denominada **activación de folículos terciarios o antrales**. Esta segunda fase de activación tiene características muy diferentes a la primera

ya que requiere niveles elevados de FSH. Esta activación en el caso particular de las especies fotoperiódicas ocurre solamente en la temporada de transición y reproductiva. Los primeros estudios de la foliculogénesis fueron realizados mediante seguimientos ecográficos por eso sólo describen el patrón de comportamiento de los folículos terciarios. A partir de estos estudios ecográficos se definió a la **onda folicular** como la activación y crecimiento simultáneo de un grupo de folículos terciarios que en un punto divergen continuando uno de ellos su crecimiento y diferenciación (folículo dominante) mientras que los otros (folículos subordinados) se atresian. A medida que los estudios moleculares fueron avanzando, han permitido determinar que los folículos secundarios ya expresan receptores para FSH y requieren de su estimulación para formar la cavidad antral. En este artículo nos referiremos a los folículos terciarios al hablar del reclutamiento folicular durante la segunda activación folicular o activación de folículos antrales. A fin de describir mejor la dinámica de los folículos antrales, el proceso se divide en tres sucesos diferentes: **reclutamiento** (activación de un grupo de folículos terciarios), **selección** (un folículo se selecciona sobre los otros) y **dominancia** (el folículo seleccionado, dominante, continua creciendo mientras los otros subordinados regresan y se atresian).

Una vez que los folículos primordiales comienzan a diferenciarse, es decir abandonan la población de folículos de reserva tienen dos caminos posibles a seguir: ovular o atresiar en algún punto de su diferenciación. Alrededor del 99% de los folículos que comienzan la activación se atresian sin llegar nunca a ovular. El proceso de atresia puede ocurrir en cualquier momento de la foliculogénesis. Histológicamente la atresia se caracteriza por la presencia de vacuolas en el citoplasma del

ovocito y por la presencia de núcleos picnóticos en las células de la granulosa.

### **Diferencias entre el folículo dominante y los subordinados**

Los cambios moleculares que llevan a la desviación folicular pueden ocurrir en cualquier folículo terciario, es decir que todos los folículos pertenecientes a una misma onda tienen la capacidad de ser dominantes. Esto se comprueba al remover quirúrgicamente el folículo dominante una vez producida la selección. El folículo subordinado que le sigue en tamaño de la misma onda pasará a dominar sobre los otros.

El avance de las técnicas moleculares ha producido un cambio en la biología de la reproducción. Por muchos años se consideró que el mecanismo de selección folicular estaba regulado únicamente por factores endocrinos, hoy se sabe que antes que los cambios en las concentraciones hormonales se hagan evidentes y mucho antes de que los cambios de tamaño sean visibles ecográficamente, el mecanismo de selección está determinado por mecanismos intraováricos. Es posible que la LH esté involucrada en el proceso de selección, ya que los sucesos de desviación de tamaño y aumento de LH ocurren simultáneamente. Además el folículo dominante expresa más receptores para LH que los subordinados. En la yegua en particular, la selección folicular se hace visible ecográficamente aproximadamente 6 días antes de la ovulación cuando el folículo alcanza entre 20 a 23.9 mm<sup>15</sup>. El folículo dominante a comparación de los subordinados, presenta concentraciones mayores de estradiol en el líquido folicular <sup>29</sup>, IGF-I libre (debido a la disminución de las proteínas ligadoras de IGF), activina-A e inhibina-A antes del desvío folicular, es decir, antes que la dominancia se haga evidente ecográficamente. En cambio, la concentración

de progesterona intrafolicular recién es mayor en el dominante luego de producido el desvío folicular. Infiriéndose que la progesterona no participa en el proceso de desviación folicular ya que es similar en subordinados y dominantes en el momento en que los folículos divergen. Por otro lado, Donadeu y Ginther (2002) demostraron que la concentración de androstenediona es similar en los subordinados y en el dominante, se desprende entonces que la disminución de estrógenos en los folículos subordinados no es por falta de andrógenos. La concentración mayor de estradiol que se observa en el folículo dominante, se debería a un mecanismo intrafolicular que amplifica el estímulo de la FSH regulado por IGF<sup>47</sup>. El folículo dominante tiene a su vez un sistema de retroalimentación positivo de autoamplificación establecido por un mecanismo compuesto por el estradiol y el TGFβ (sintetizado por la teca interna) que interactúa con la FSH, para aumentar el número de células de la granulosa y acrecentar la actividad de la aromatasa. La alta producción de inhibina producida por el folículo dominante actúa localmente (acción paracrina) inhibiendo el desarrollo de los folículos subordinados y en forma sistémica, por un mecanismo de retroalimentación negativo a la FSH a nivel de la hipófisis. Esta disminución de la FSH no afecta al folículo dominante por poseer el sistema de amplificación mencionado previamente. Además el folículo dominante es más eficiente en la obtención de nutrientes y factores de crecimiento por contar con mayor desarrollo angiogénico<sup>61</sup>.

Tanto FSH como LH tienen la acción fisiológica de regular la proliferación, diferenciación y esteroidogénesis de la pared folicular, actuando los factores de crecimiento, especialmente el sistema IGF I - II y el estradiol, como potenciadores y amplificadores de la acción de la FSH.

### **Mecanismos involucrados en la ovulación**

Se define como ovulación la culminación de una serie de mecanismos complejos desencadenados por la elevación de LH o LH-FSH según la especie, que como resultado, produce la expulsión del ovocito II del folículo preovulatorio. Los sucesos de ovulación abarcan cambios bioquímicos, fisiológicos y morfológicos. Predecir el momento exacto de la ovulación es difícil y requiere práctica en la palpación y observación ultrasonográfica transrectal. El folículo preovulatorio en la yegua cambia de forma y consistencia (pierde turgencia) a la palpación transrectal momentos antes de producirse la ovulación. Por ultrasonografía se puede observar que de una forma circular, el folículo comienza a achatarse, haciéndose más cónico con el vértice apuntando hacia la fosa de ovulación y engrosamiento de la pared folicular.

La ovulación ocurre en la mayoría de las especies por un aumento repentino de la LH. En la yegua se desencadena por un aumento gradual y progresivo de LH<sup>46</sup>, debido a la concentración alta de ácido siálico como se ha mencionado anteriormente que le otorga a la LH mayor vida media porque se metaboliza más lentamente en hígado. La concentración máxima en plasma de LH se alcanza en esta especie luego de producida la ovulación. Esto no significa que no requiera valores altos de LH para desencadenar los sucesos ovulatorios, ya que la bioactividad de la hormona es máxima en el momento de la ovulación. Una vez producida la ruptura de las células foliculares que rodean al ovocito, éste es expulsado hacia el oviducto. En el caso particular de las yeguas, el ovocito es expulsado por la fosa de ovulación.

Los procesos que ocurren durante la ovulación han sido descritos por tres mecanismos diferentes. El primer mecanismo propuesto fue el de la **presión intrafolicular**



en 1858. Sostenía que el ovocito se liberaba de las células que lo rodeaban como respuesta a una «explosión» ocurrida por el aumento de presión debido al incremento del líquido folicular y a la tensión ejercida por las células musculares lisas del ovario que se encuentran entre las células de teca externa. Esta teoría ha sido descartada desde que ha sido posible medir la presión intrafolicular, ya que la misma permanece constante en el momento de la ovulación (15-20 mmHg).

Actualmente los mecanismos más aceptados son la **contracción muscular y el mecanismo bioquímico**. La primera se basa en la presencia de células musculares lisas en la teca externa. Sin embargo, Espey (1994) determinó que la contracción se produciría por las fibras de colágeno y no por fibras musculares. También es posible que la contracción observada sea producida por contracciones espasmódicas de la musculatura lisa de los vasos sanguíneos ováricos producidos como respuesta al estímulo producido por la PGF2 $\alpha$ . Si bien este mecanismo podría estar colaborando en la ovulación, no es la causa principal de expulsión del ovocito. Sin duda, la teoría que mejor explicaría los mecanismos involucrados en la ovulación es la **teoría bioquímica**, la cual pone en evidencia la importancia de las enzimas proteolíticas y los cambios vasculares<sup>55</sup>. Los experimentos iniciales que respaldan la importancia de las enzimas proteolíticas en el proceso de la ovulación, fueron realizados por Espey y Lipner en 1994. Inyectando enzimas proteolíticas directamente en la cavidad antral de folículos preovulatorios, lograron desencadenar cambios morfológicos similares al proceso ovulatorio. El aumento preovulatorio de la LH aumenta la expresión de las enzimas proteolíticas y sus factores inhibitorios permitiendo que la ovulación sea un proceso

controlado. Por un lado, la **plasmina** aumenta a través de la activación del plasminógeno. La procologenasa se activa en **colagenasa** rompiendo el colágeno de la teca externa y disminuyendo la tensión de la pared folicular. La plasmina aumenta tanto en las células granulosas como en las células tecales por estímulo de la LH, pero la regulación en uno y otro tipo celular es diferente, sirviendo como control en la degradación del folículo. A medida que se suceden los cambios de degradación del tejido conectivo se produce la formación del estigma en el ápice folicular. El estigma es la zona más delgada de la pared folicular por donde se liberará el ovocito en el momento de la ovulación.

Las **prostaglandinas (PG), tromboxanos y lipoxidasas**, son ácidos grasos derivados del ácido araquidónico que pertenecen a los eicosanoides. Estas tres clases de eicosanoides intervienen en el proceso de la ovulación de diferente forma. La PGF2 $\alpha$  y PGE2 intervienen en la ruptura de la pared folicular a través de la liberación de las enzimas contenidas en los lisosomas y en cambios vasculares. La administración de inhibidores de la síntesis de PGF2 $\alpha$  como la indometacina bloquea la ruptura de la pared folicular. Los tromboxanos aumentan su expresión en folículos preovulatorios. Su acción es antagónica al efecto producido por las prostaglandinas a nivel vascular, logrando que la ovulación sea un proceso autocontrolado. Las lipoxidasas medidas por radioinmunoensayos muestran un incremento como respuesta a la LH, pero la inhibición farmacológica de las mismas facilita el proceso de ovulación. Queda aún por determinar la función de las mismas<sup>55</sup>.

La LH produce un aumento en la secreción de **progesterona** al producirse un cambio en la esteroidogénesis. El colesterol comienza a convertirse en pregnenolona en lugar de estradiol. Inhibidores de la síntesis de la

progesterona bloquean la ovulación, pero no se conoce el rol.

Los cambios vasculares comprenden un aumento en el flujo sanguíneo como respuesta al aumento de las **PG** y el **sistema renina-angiotensina** y una disminución en la resistencia vascular, por las **bradiquininas** y **radicales libres de oxígeno**, llevando a una hiperemia<sup>55</sup>. La ovulación, por lo tanto, es un proceso dinámico donde se produce ruptura de la pared folicular por la activación de enzimas proteolíticas y cambios vasculares (ver figura 1). Los cambios en el aumento de la irrigación y en la producción del edema han llevado a comparar el proceso de la ovulación con un proceso inflamatorio<sup>22</sup>.

#### **Función y regulación del Cuerpo Luteo (CL)**

Las células de la granulosa producen progesterona a medida que se luteinizan. La FSH comienza a aumentar luego del día 0 (día de la ovulación) y la LH en la yegua continua alta debido a su lento metabolismo en hígado, como se explicó anteriormente. Para describir la funcionalidad del CL, se puede dividir la regulación luteal en tres etapas: desarrollo, mantenimiento y regresión del cuerpo lúteo.

**Desarrollo del CL.** Este período abarca en la yegua del día 0 al 5 y en la vaca del día 5 al 10 pos-ovulación. A las 10-12 horas pos-ovulación el CL de la yegua ya produce altas concentraciones de progesterona. Esto se debería a la alta concentración sérica de LH pos-ovulación. La LH actúa manteniendo la funcionalidad del CL. Pero no sería el único factor luteotrópico, sino que además actuarían otros factores, ya que el tratamiento con antagonistas de GnRH, si bien produce disminución en la secreción de progesterona, no produce luteólisis completa como se observa en ovinos y bovinos<sup>58</sup>.

**Mantenimiento del CL.** La alta afinidad de los receptores de LH de las células luteales, permiten que el CL se mantenga activo pese a las concentraciones bajas de esta hormona durante el diestro. Además, como se dijo previamente, hay evidencias en la yegua que otros factores intervienen manteniendo activo al CL. En la yegua este período abarca del día 5 al 14 y en la vaca del día 10 al 17.

**Regresión del CL.** En ausencia del reconocimiento materno de la preñez, se produce la regresión del CL alrededor del día 14 en la yegua y 16-17 en la vaca. El útero es el órgano que determina la regresión del CL a través de la secreción de la hormona luteolítica prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ). En la vaca, oveja y yegua el útero y ovario son drenados por la vena útero-ovárica. Pero la localización relativa de la arteria ovárica con respecto a la vena es distinta en la yegua con respecto a las otras especies determinando que la llegada de la PGF2 $\alpha$  al ovario en la yegua sea distinta que en otras especies. En la oveja y vaca la arteria ovárica se enrolla sobre la vena útero-ovárica y este contacto permite la llegada directa de la PGF2 $\alpha$  al ovario<sup>27</sup>. En cambio en la yegua, la arteria no está en contacto directo con la pared de la vena útero-ovárica, por lo que la llegada de la PGF2 $\alpha$  se realiza en forma sistémica. En los camélidos la arquitectura vascular es similar a la reportada en los rumiantes pero con la particularidad de que el cuerno uterino izquierdo produce luteólisis en el ovario ipsilateral y a través de una rama venosa que atraviesa el cuerpo uterino tiene la capacidad de provocar la luteólisis en el ovario derecho. El cuerno derecho sólo puede provocar la luteólisis en el ovario ipsilateral.

Además de la PGF2 $\alpha$  otras hormonas participan de la lisis del CL. Los estrógenos tienen un efecto positivo sobre el útero en su habilidad de liberar PGF2 $\alpha$ . Pero al igual que

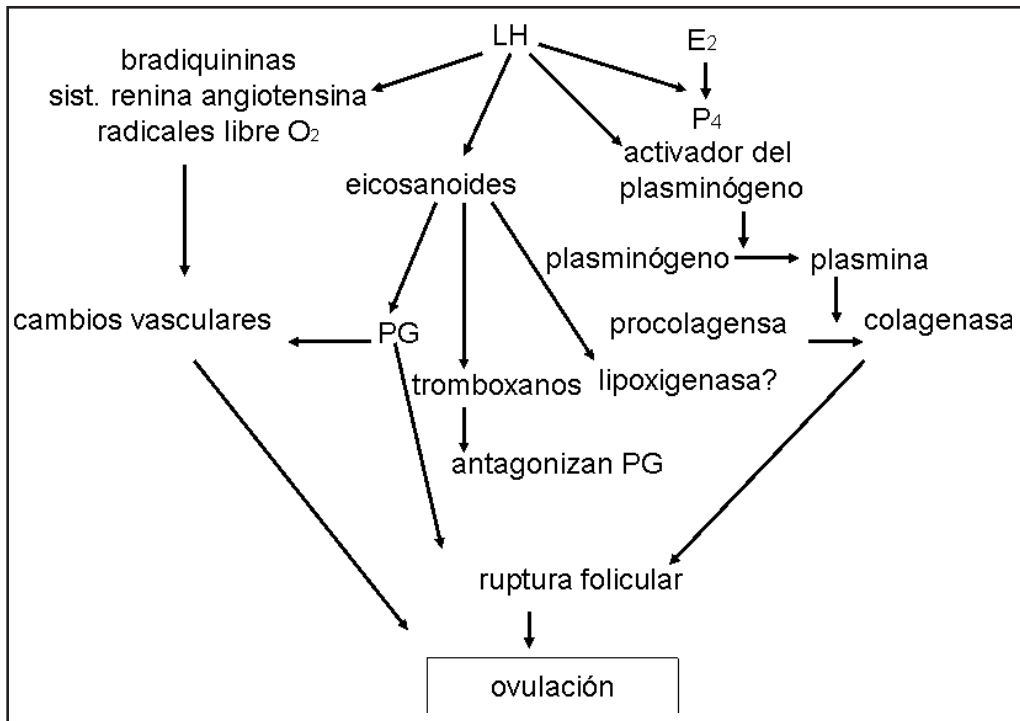


Figura 1: Esquema de los mecanismos propuestos durante la ovulación

en los rumiantes, es necesario que la progesterona haya actuado previamente sobre las células endometriales. Los estrógenos tienen un feedback positivo sobre ellos mismos al aumentar sus propios receptores en endometrio; además producen el aumento de los receptores para oxitocina.

En rumiantes el CL está formado por células de la granulosa y teca interna. Posee receptores para oxitocina y para estradiol<sup>39</sup>, sugiriendo que los estrógenos tendrían una acción directa sobre la lisis del CL. La PGF2 $\alpha$  en estos animales, actuaría sobre el CL por dos mecanismos. Por un lado, estimula a las células luteales grandes a secretar oxitocina, produciendo un mecanismo de retroalimentación positiva al estimular la liberación de más PGF2 $\alpha$  por parte del

endometrio. El segundo mecanismo consiste en regular directamente su propia síntesis estimulando a las células tecales a producir PGF2 $\alpha$ <sup>53</sup>. Este último mecanismo se encuentra activo en el CL del bovino a partir del día 5. Esto explicaría por qué una sola inyección de PGF2 $\alpha$  antes del día 4 no produce luteólisis pero dosis repetidas o una sola inyección a partir del día 5 sí produce la regresión del CL<sup>54</sup>. En yeguas no se ha descrito el mecanismo por el cual el CL no responde a la PGF2 $\alpha$  exógena antes del día 5, pero tomando como modelo lo que ocurre en rumiantes, es factible pensar que se deba a la falta del mecanismo de amplificación de la PGF2 $\alpha$ . Sin embargo, cabe aclarar que el CL de la yegua, formado solamente por células de la granulosa no produce oxitocina<sup>35</sup>. El endometrio<sup>9</sup> sintetiza oxitocina, estimulando

positivamente la secreción de  $\text{PGF2}\alpha^{57}$ . Ver Figura 2.

### Características de la dinámica ovárica durante el ciclo reproductivo en la yegua

La yegua es poliéstrica estacional con fotoperíodo positivo. Es decir presenta varios ciclos estrales durante la temporada reproductiva, y se encuentra regulada por la cantidad de horas luz. El año calendario puede dividirse en cuatro etapas que difieren endócrina y fisiológicamente: etapa anovulatoria, transición de primavera, etapa reproductiva y transición de otoño.

**Etapa anovulatoria:** La liberación de melatonina es bloqueada por el estímulo

producido por la luz. Durante el invierno, la mayor cantidad de horas de oscuridad, producen una cantidad suficiente de melatonina como para bloquear el eje hipotalámico-hipofisario-gonadal. Como consecuencia, la GnRH es liberada en forma pulsátil con muy baja amplitud y frecuencia (pulsos débiles con intervalos muy largos entre cada liberación), resultando insuficiente para producir secreción de FSH y LH. A la palpación rectal, los ovarios se palpan chicos y duros por la ausencia de folículos antrales grandes (> 15 mm). La activación inicial de folículos preantrales, como se explicó anteriormente puede continuar ya que este es un proceso gonadotrófico independiente. Se

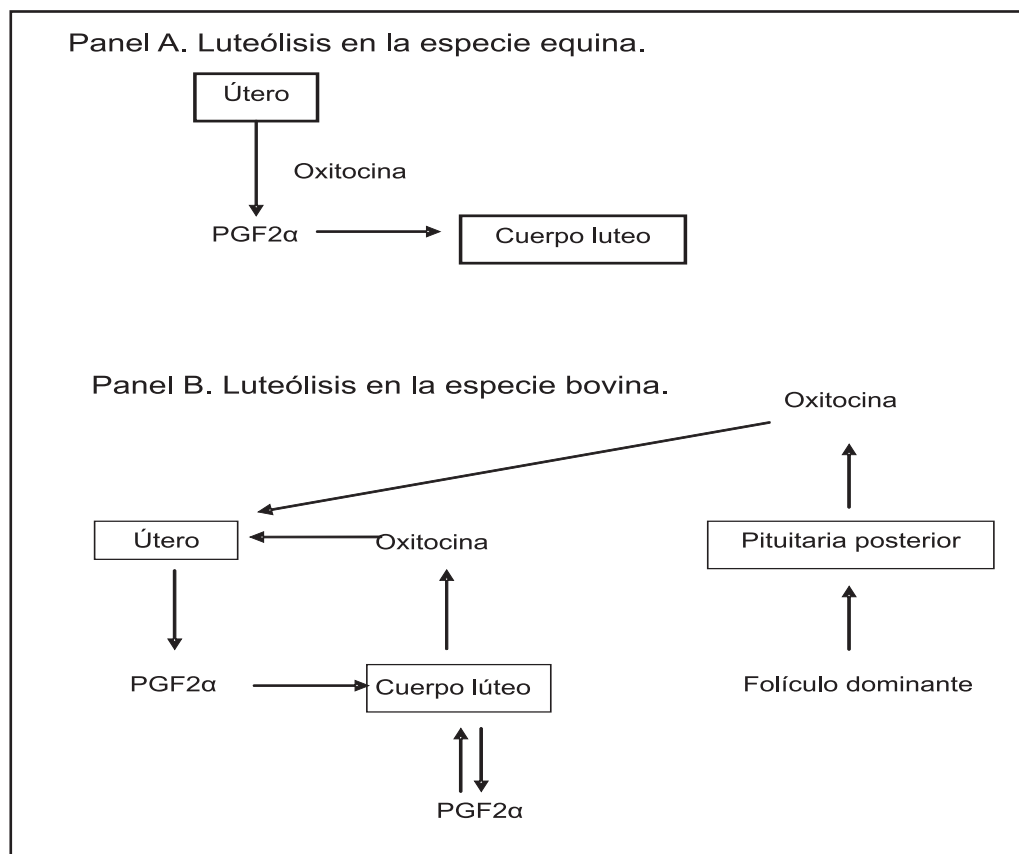


Figura 2: Esquema sobre los mecanismos propuestos responsables de la lisis del CL

prefiere denominar a esta etapa anovulatoria y no anestro ya que algunas yeguas presentan signos de celo debido a la ausencia de progesterona y la liberación de estradiol desde las glándulas adrenales. La FSH durante el invierno se libera con una frecuencia de un pulso cada dos días<sup>7</sup> siendo insuficiente como para producir el crecimiento de folículos mayores a 15 mm.

**Transición de primavera:** El inicio de la actividad reproductiva se produce paulatinamente y luego de pasar por un período de aproximadamente 2 meses de transición. Durante este período, la concentración de FSH es óptima para producir el reclutamiento de folículos pero al no liberarse LH en cantidad suficiente, no se desencadena la ovulación. La deficiencia estacional que se observa en la liberación de LH resulta en una concentración baja de los factores presentes en el líquido folicular como IGF-I, estradiol, inhibinas y factores angiogénicos (VEGF). Todo esto conduce a que no se produzca la ovulación. La concentración baja de estradiol e inhibinas a su vez, lleva a una mayor concentración de FSH porque no se produce el mecanismo de retroalimentación negativo<sup>32</sup>. Al principio de la transición ocurren sólo **ondas foliculares menores**. Se denomina **ondas foliculares menores** al reclutamiento de un número determinado de folículos que crecen entre 6 y 21 mm<sup>31, 32</sup> y regresan simultáneamente sin la formación de un folículo dominante. Al final de la transición, ocurren **ondas foliculares mayores**. Se produce el reclutamiento de un conjunto de folículos antrales que si bien regresan todos, uno de ellos logra alcanzar mayor tamaño que los demás, más de 21 mm de diámetro<sup>31, 32</sup>. A la palpación los ovarios se palpan como «racimos de uvas» por la presencia de muchos folículos de tamaño similar entre ellos (20-30 mm)<sup>52</sup>. El comportamiento de la yegua

en esta etapa se caracteriza por tener celos largos e irregulares. La elevación de la LH permite la primer ovulación dando por terminado la etapa de transición y el comienzo de la etapa reproductiva.

**Etapa reproductiva:** El comienzo de la etapa reproductiva sucede cuando las horas luz son suficientes para suprimir el reflejo inhibitorio producido por la melatonina sobre la liberación de GnRH. Los primeros ciclos del año suelen ser irregulares, adquiriendo más regularidad en cuanto a duración, a medida que avanza la estación reproductiva. La liberación de GnRH es continua con pulsos adicionales cada dos horas en diestro y dos pulsos cada hora en estro. En la yegua puede ocurrir una o dos ondas foliculares mayores por ciclo estral ya que la concentración de FSH puede ser secretada siguiendo un patrón uni o bimodal. Cuando es secretada con un patrón bimodal presenta un aumento plasmático del día 3 al 5 y un segundo aumento entre los días 11 a 13 del ciclo<sup>28</sup>. Más entrada la etapa reproductiva, la FSH puede tener un patrón de secreción unimodal, aumentando solamente una vez por ciclo<sup>46</sup>. A diferencia de la transición, en la temporada reproductiva sólo ocurren ondas foliculares mayores, ya que siempre se produce un folículo dominante. Según el momento del ciclo en que se producen las ondas foliculares, se subclasifican en **onda mayor primaria** y **onda mayor secundaria**. Se define como **onda mayor primaria** al grupo de folículos que darán origen a la ovulación estral. La ovulación ocurre 24-48 horas antes de que finalice el estro. La **onda mayor secundaria** es la activación y diferenciación de folículos terciarios cuyo folículo dominante adquiere su mayor tamaño durante el diestro. Comienza a observarse ecográficamente al final del estro del ciclo anterior. La onda mayor secundaria varía su incidencia según la raza y en general se observa con mayor frecuencia al

comienzo de la etapa reproductiva anual, ya que como se explicó, la FSH no siempre tiene una modalidad de secreción bimodal. La yegua es una de las especies domésticas que puede ovular con concentraciones altas de progesterona. Por lo tanto, a diferencia de otras especies, el folículo dominante de la onda mayor secundaria puede llegar a ovular (ovulación diestral). Si esta ovulación ocurre alrededor del día 10 del ciclo, al producirse la liberación del endometrio de PGF2alfa, se producirá la lisis del CL diestral al mismo tiempo que el CL primario. En cambio, si la ovulación diestral ocurre más tardíamente no podrá responder a la liberación de PGF2alfa y persistirá alargando la duración normal del diestro, formando un cuerpo lúteo persistente.

**Transición de otoño:** Aunque los cambios fisiológicos que ocurren en la transición de otoño no están tan definidos como en el resto de las etapas anuales, se puede afirmar que durante el otoño ocurren cambios paulatinos que van a terminar temporalmente con la activación de folículos antrales y el mecanismo de la ovulación. Irvine et al (2000) observaron que la FSH vuelve a tener un patrón bimodal de secreción como al inicio de la temporada reproductiva con un pulso cada dos días. La concentración sérica de la LH disminuye más rápidamente luego de su aumento pre-ovulatorio y finalmente no logra alcanzar los niveles necesarios para desencadenar la ovulación<sup>56</sup>.

### **Características de la dinámica ovárica en el ciclo reproductivo en la hembra bovina**

La hembra bovina es un animal poliéstrico anual (cicla todo el año). Cada ciclo dura  $21 \pm 4$  días y el celo 6 a 18 horas. La ovulación tiene lugar 24 a 30 horas después de comenzado el estro.

Como se mencionó anteriormente, en las terneras, al igual que las otras especies de mamíferos, al nacimiento solamente se encuentran en el ovario ovocitos I, es decir células germinales cuya meiosis iniciada en el período prenatal se encuentra detenida en la profase de la primera división meiótica, en el estado denominado diploteno. Los ovocitos I, rodeados por un epitelio plano de células granulosa, toman el nombre de folículos primordiales. Las terneras al nacimiento poseen una dotación de folículos primordiales, que varía entre 42.000 y 325.000, pero a los 10- 15 años este número se reduce a 1000-5000<sup>20</sup>.

Terneras con una población de 6.000 a 23.000 folículos primordiales, pueden presentar la condición clínica de hipoplasia ovárica en distintos grados. Si presenta menos de 500 folículos primordiales la probabilidad de lograr una ovulación es muy baja<sup>48</sup>. El freemartinismo, condición patológica producto de la fusión de las membranas fetales entre mellizos de distinto sexo, produce un aumento de la hormona antimülleriana en la hembra fetal, produciendo la falta de desarrollo de las células germinales en ambos ovarios<sup>48</sup>.

Por ultrasonografía transrectal, se demostró que el modelo de ondas de crecimiento folicular comienza ya a las dos semanas de edad<sup>23</sup>. Es decir que es posible observar el crecimiento folicular gonadotrófico independiente en hembras prepúberes. La sucesión recurrente de ondas foliculares, se produce a lo largo del tiempo, en diferentes estados fisiológicos como el período prepuberal, ciclo sexual, preñez y el período posparto. Las ondas se desarrollan al azar en los dos ovarios, salvo en la preñez y el posparto temprano en donde la presencia del cuerpo lúteo de preñez determina el reclutamiento solamente en el ovario contralateral. Cada onda folicular recluta entre

5 a 20 folículos <sup>4</sup> que han adquirido competencia meiótica por medio de un pico secundario de FSH que necesita un umbral de concentración que varía entre animales y folículos. Además se inicia la expresión y actividad de la aromatas, inhibinas, activinas y P<sub>450-Scc</sub> en células de la granulosa. La «ventana de reclutamiento» momento de la emergencia folicular, es de 2 días en el bovino; esto significa que sólo 20% del ciclo estral (4 a 6 días según el número de ondas) es posible comenzar el tratamiento superovulatorio en un programa de transferencia embrionaria; por lo tanto el 80% del ciclo es no apto.

Los folículos antrales pequeños en el bovino que llegan a un tamaño de 0,2 mm, tienen una primera etapa de crecimiento hasta 4 mm, con proliferación de las células de la granulosa regulada por factores de crecimiento (regulación parácrina); una segunda etapa de 4 mm a 9 mm dependiente de la FSH y factores de crecimiento en los que se inicia la expresión y actividad de la 3 β HSD y la 17 α hidroxilasa en células de la granulosa y teca interna; una tercera etapa de 9 mm a tamaño preovulatorio (10 – 20 mm) dependiente de la LH, factores de crecimiento y concentraciones basales de FSH<sup>60</sup>. Los folículos mayores de 10 mm son capaces de ovular (folículo estrógeno activo) en presencia de niveles basales de progesterona. Los folículos antrales pequeños de 0,2 mm requieren 40 días para llegar al estado preovulatorio.

Las hembras *Bos taurus* y *Bos indicus* presentan generalmente dos a tres ondas de crecimiento folicular en su ciclo sexual. La proporción de hembras *Bos taurus* y *Bos indicus* con dos o tres ondas de crecimiento folicular es muy variable, no teniendo relación con la raza, edad y con el nivel de fertilidad de las mismas. El número de ondas de crecimiento folicular durante el ciclo estral es determinado

por la longitud de la fase luteal; si la progesterona declina mientras el folículo dominante de la segunda onda está en la fase de crecimiento posdesviación o en su fase estática temprana (3–4 días después de su desarrollo máximo) este folículo ovulará; sino sufrirá atresia y se originará una nueva onda<sup>40</sup>.

En los ciclos estrales de 2–3 ondas, la emergencia de la primera onda folicular, ocurre generalmente alrededor del día de la ovulación. La emergencia de la segunda onda ocurre en el día 9–10 para los ciclos de 2 ondas y el día 8-9 para los de 3 ondas. En los ciclos de 3 ondas, la tercer onda emerge en el día 15–16. En las ondas foliculares anovulatorias, los folículos regresan sin ovular. El folículo dominante presente en el inicio de la luteolisis será el folículo dominante ovulatorio y la emergencia de la próxima onda (primera del nuevo ciclo) se demorará hasta el momento de la ovulación. En las ondas foliculares no ovulatorias las concentraciones de estradiol circulante se mantienen bajas lo cuál indica que, a pesar de que el tamaño preovulatorio puede ser alcanzado, el folículo dominante no alcanza las características funcionales preovulatorias tales como la producción de estradiol<sup>30</sup>. El folículo dominante (folículo estrógeno activo) de la última onda continúa su crecimiento y la biosíntesis de estradiol, hasta que se alcanza el nivel suficiente de estradiol circulante, para producir el feed back positivo sobre el área de control cíclico del hipotálamo que aumenta los pulsos de GnRH/ LH/ FSH, e inducen el pico preovulatorio de LH y FSH y por lo tanto el proceso de la ovulación. Después del pico de LH este feedback se interrumpe y las células de la granulosa sintetizan progesterona y se luteinizan. Por eso el mecanismo que regula la dinámica folicular está basado en las respuestas diferenciales a la FSH y LH.

### **Puntos claves que deben ser tenidos en cuenta en la dinámica folicular**

1) El folículo dominante causa regresión de los folículos subordinados por un mecanismo local o sistémico (?).

2) El folículo dominante durante su fase de crecimiento y estática temprana suprime la emergencia de la próxima onda.

3) El folículo dominante comparativamente pequeño, de la segunda onda en los ciclos de 3 ondas (expuesto a altas concentraciones de progesterona durante la fase de crecimiento) produce un período de dominancia relativamente breve y permite la emergencia de la tercera onda, antes que se inicie la luteolisis.

4) La vida funcional promedio de un folículo dominante desde la emergencia es de 8-11 días.

El cuerpo lúteo regresa más temprano en los ciclos de 2 ondas (día 16 –17), que en los ciclos de 3 ondas (19 – 21 días) resultando en ciclos estrales de menor duración.

### **Características de la dinámica ovárica en los camélidos sudamericanos**

Los camélidos sudamericanos son especies de ovulación inducida, es decir no hay asociación entre estro y ovulación. El celo no se manifiesta de manera cíclica y predecible sino que los signos de celo pueden durar mientras no se establezca un cuerpo lúteo. El mecanismo de liberación de la LH se desencadena naturalmente por la cópula o artificialmente a través de la administración de hormonas (hCG y GnRH). Siempre se pensó que el estímulo físico de los genitales a través de la monta y la intromisión del pene era el estímulo necesario para desencadenar la ovulación aunque se sospechaba de un factor en el plasma seminal a partir de estudios hechos por investigadores en China en

camellos bactrianos que lograron inducir la ovulación a partir de la administración parenteral de plasma seminal<sup>43</sup>. Adams et al., (2005) trabajando en camélidos sudamericanos domésticos sugiere la existencia de un factor potente en el plasma seminal de alpacas y llamas que provocaría la liberación de concentraciones de LH que induciría la ovulación y tendría acción luteotrófica.

Como ya ha sido mencionada, en la vida fetal se produce la diferenciación de los folículos primordiales y la activación gonadotrófica independiente. En la figura 3 se observa un folículo primordial, uno primario y uno secundario en un corte histológico de un ovario fetal.

En los camélidos sudamericanos adultos se describen tres estadios reproductivos: a) sin ovulación, b) con ovulación y vacía y c) con ovulación y preñada. En los tres estadios la dinámica ovárica se produce siguiendo un patrón de ondas de crecimiento folicular. Estas ondas varían en longitud (días) y en el tamaño del folículo dominante según el estado reproductivo o lactacional<sup>2</sup>. La dinámica folicular se produce con emergencia sincrónica de varios folículos, uno de los cuales se convierte en dominante, los otros folículos subordinados, regresan y sufren atresia; dichas ondas tienden a superponerse y alternarse entre los ovarios, con una duración en llamas de entre 20 a 25 días<sup>2,3</sup>, en vicuñas de  $7,25 \pm 0,47$  días (promedio  $\pm$  EEM)<sup>41</sup> y en alpacas 12 a 14 días<sup>10</sup>.

Los perfiles de 17  $\beta$  estradiol también exhiben un patrón de ondas. En llamas y vicuñas se observa una estrecha correlación entre la concentración plasmática de estradiol y el tamaño folicular. La concentración de progesterona se mantiene en niveles basales indicando la ausencia de ovulaciones



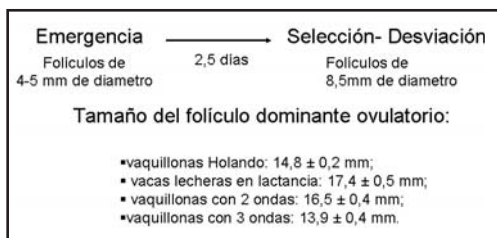


Figura 3: Esquema del crecimiento folicular bovino

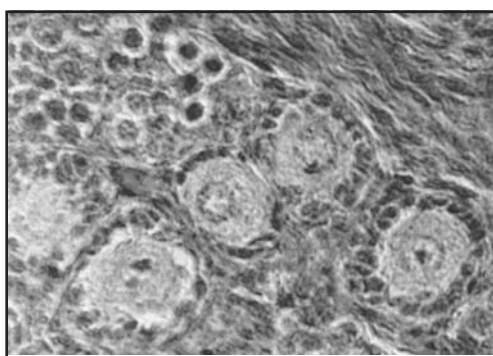


Figura 4: Corte histológico de un ovario de un feto de llama de 6 meses de gestación. Observese la presencia de folículos primordiales (ovocito rodeado por una capa plana de células de la granulosa), primarios (ovocito rodeado de una capa cúbica de granulosa) y secundarios (ovocito rodeado por más de una capa cúbica de células de la granulosa).

espontáneas<sup>41, 13</sup>. En la vicuña la duración de la onda y el intervalo interonda es más corto que en la llama y el diámetro del folículo mayor es menor en esta especie comparado con la llama<sup>6</sup>.

La liberación de LH comienza a los 15 minutos de iniciada la cópula y llega al pico a las 2-3 horas para volver a niveles basales a las 6-7 hs. La repetición de la cópula a las 24 hs no provoca una nueva liberación de LH<sup>12</sup>. La respuesta al estímulo ovulatorio depende del tamaño del folículo y del momento de la onda, las hembras con folículos de 4-5 mm posiblemente por menor cantidad de estrógenos provocan liberación de niveles menores de LH que las que poseen folículos de mayor tamaño en fase de crecimiento, estática o regresión. Los folículos de 4-5 mm no ovulan y los que están en fase de regresión se luteinizan<sup>11</sup>. La ovulación se produce alrededor de las 24-26 hs luego de la cópula en la alpaca<sup>50</sup> y alrededor de las 42 hs (1,8 días) en la llama<sup>1</sup>. El cuerpo lúteo formado secreta progesterona evidente en sangre a los 4 días de la cópula. La concentración de progesterona comienza a descender el día 8 y el cuerpo lúteo regresa entre los días 9 y 11<sup>3</sup>.

Tabla 1: Características de las ondas foliculares en camélidos sudamericanos

Característica observada (días)	ALPACA Bravo et al.(2002)	LLAMA Adams et al. (1990) <sup>1</sup> - Chaves et al. (2000) <sup>2</sup>	VICUÑA Miragaya et al. (2004)
Duración	12-14 (7 a 19)	20-25 <sup>1</sup> 22,6 ± 2,5 <sup>2</sup>	7,25 ± 0,46
Fase de crecimiento	4-5	9,2 ± 2,8 <sup>2</sup>	3,03 ± 0,18
Fase estática	4-5	5,2 ± 1,4 <sup>2</sup>	1,40 ± 0,21
Fase de regresión	3-4	8,2 ± 2,2 <sup>2</sup>	2,87 ± 0,28
Intervalo interonda	-	20,9 ± 1,6 <sup>1</sup> 18,0 ± 1,0 <sup>2</sup>	4,22 ± 0,29

## AGRADECIMIENTO

Al M.V. Juan Bovies por la asistencia técnica en los preparados histológicos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. ADAMS, G.P.; GRIFFIN, P.G.; GINTHER, O.J. 1989. In situ morphologic dynamics of ovaries, uterus, and cervix in llamas. *Biol Reprod* 41: 551-558.
2. ADAMS, G.P.; SUMAR, J.; GINTHER, O.J. 1990. Effects of lactational and reproductive status on ovarian follicular waves in llama. *J Reprod Fert* 90: 535-545.
3. ADAMS, G.P.; SUMAR, J.; GINTHER, O.J. 1991. Form and function of the corpus luteum in llamas. *Anim Reprod Sci* 24(1-2): 127-138.
4. ADAMS, G.P.; MATTERI, R.L.; KASTELIC, J.P.; KO, J.C.H.; GINTHER, O.J. 1992. Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *J Reprod Fert* 94: 177-188
5. ADAMS, G.P.; RATTO, M.H.; HUANCA, W.; SINGH, J. 2005. Ovulation-Inducing Factor in the seminal plasma of alpacas and llamas. *Biol reprod* 73: 452-457.
6. AGÜERO, A.; MIRAGAYA, M.H.; FERRER, M.S.; CAPDEVIELLE, E.F.; CHAVES, M.G.; RUTTER, B. 2001. Follicular dynamics in Vicugna vicugna. *Abstract Theriogenology* 55 (1):379.
7. ALEXANDER, S.L.; IRVINE, C.H. 1991. Control of onset of breeding season in the mare and its artificial regulation by progesterone treatment. *J Reprod Fert* 53(3):307-318.
8. ALEXANDER, S.L. AND IRVINE, C.H. FSH and LH. En McKinnon AO, Voss JL. (Ed.) - *Equine Reproduction*. Lea & Febiger; 1993. pag. 121-132.
9. BEHRENDT, C.Y.; ADAMS, M.H.; DANIEL, K.S.; MCDOWELL, K.J. 1997. Oxytocin expression by equine endometrium. *Biol Reprod*; 56 Suppl, 134 (abstract).
10. BRAVO, W.P. (Ed.) *The Reproductive process of South American camelids*. Seagull Printing, Salt Lake City, UT. 2002.
11. BRAVO, W.P.; STABENFELDT, G.H.; LASLEY, B.L.; FOWLER, M.E. 1991. The effect of ovarian follicle size on pituitary and ovarian responses to copulation in domesticated south American camelids. *Biol Reprod* 45: 553-559.
12. BRAVO, W.P.; STABENFELDT, G.H.; FOWLER, M.E. LASLEY, B.L. 1992. Pituitary response to repeated copulation and/or gonadotrophin-releasing hormone administration en llamas and alpacas. *Biol Reprod* 47: 884-888.
13. CHAVES, M.G.; ABA M.; AGÜERO, A.; EGEY, J.; BERESTIN, V.; RUTTER, B. (2002). Ovarian follicular wave pattern and the effect of exogenous progesterone on follicular activity in non-mated llamas. *Animal Reproduction Science* 69 (1-2): 37-46.
14. DEANESLY, R. 1977. Germ cell proliferations in the fetal horse ovary. *Cell Tissue Res*. 185(3):361-371.
15. DONADEU, F.X.; GINTHER, O.J. 2002. Changes in concentrations of follicular fluid factors during follicle selection in mares. *Biol Reprod* ; 66: 1111-1118.
16. DRIANCOURT, M.A.; REYNAUD, K.; CORTVRINDT, R.; SMITZ, J. 2000. Roles of KIT and KIT LIGAND in ovarian function. *Rev Reprod*; 5(3):143-52.
17. DURLINGER, A.L.; VISSER, J.A.; THEMME, A.P. 2002 Regulation of ovarian function: the role of anti-Mullerian hormone. *Reproduction*; 124(5):601-609.
18. DURLINGER, A.L.; GRUIJTERS, M.J.; KRAMER, P.; KARELS, B.; INGRAHAM, H.A.; NACHTIGAL, M.W.; UILENBROEK, J.T., GROOTEGOED, J.A.; THEMME, A.P. 2002. Anti-Mullerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. *Endocrinology* 143(3): 1076-84.
19. EPPIG, J.J.; O'BRIEN, M.J. 1996. Development in vitro of mouse oocytes from primordial follicles. *Biol Reprod* 54(1):197-207.
20. ERICKSON, B.H. 1966. Development and senescence of the postnatal bovine ovary. *Journal of Animal Science* 25: 800-805

21. ESPEY, L.L. 1994. Current status of the hypothesis that mammalian ovulation is comparable to an inflammatory reaction. *Biol Reprod* 50(2):233-238.
22. ESPEY, L.L.; LIPNER, H. Ovulation. Chapter 13, 725-780 in *Physiology of Reproduction*. Second edition. Edited by E. Knobil and J.D. Neill. Raven press Ltd, New York, 1994.
23. EVANS, A.C.O.; ADAMS, G.P.; RAWLINGS, N.C. 1994 Follicular and hormonal development in prepubertal heifers from 2 to 36 weeks of age. *Journal of Reproduction and Fertility* 102: 463- 470.
24. GALLOWAY, M.; GREGAN, S. M.; WILSON, T.; MCNATTY, K. P.; JUENGEL, J. L.; RITVOS, O.; DAVIS, G. H. 2002 Bmp15 mutations and ovarian function. *Mol. Cell. Endocrinol.* 191(1):15-18.
25. GERARD, N.; DELPUECH, T.; OXVIG, C.; OVERGAARD, M.T.; MONGET, P. 2004. Proteolytic degradation of IGF-binding protein (IGFBP)-2 in equine ovarian follicles: involvement of pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) and association with dominant but not subordinated follicles. *J Endocrinol* 182 (3): 457-466.
26. GIGLI, I.; CUSHMAN, R.A.; WAHL, C.M.; FORTUNE, J.E. 2005 Evidence for a role for anti-Mullerian hormone in the suppression of follicle activation in mouse ovaries and bovine ovarian cortex grafted beneath the chick chorioallantoic membrane. *Mol Reprod Dev* 71(4): 480-488.
27. GINTHER, O.J AND DEL CAMPO C.H..1973. Vascular anatomy of the uterus and ovaries and the unilateral luteolytic effect of the uterus: areas of close apposition between the ovarian artery and vessels which contain uterine venous blood in sheep. *Am J Vet Res* 34(11):1387-93.
28. GINTHER, O.J. (Ed.) Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects. Cross Plains Wisconsin, Equiservices Publishing, 1992.
29. GINTHER, O.J.; KOT, K.; KULICK, L.J.; WILTBANK, M.C. 1997. Sampling follicular fluid without altering follicular status in cattle: oestradiol concentrations early in a follicular wave. *J Reprod Fertil* 109 (2):181-186.
30. GINTHER, O.J; BEG, M.A.; DONADEU, F.X; BERGFELT, D. R. 2003 Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. *Animal Reproduction Science* 78: 239-257.
31. GINTHER, O.J.; GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; BEG, M.A. 2004 Seasonal influence on equine follicle dynamics. *Anim Reprod* 1:31-44.
32. GINTHER, O.J.; BEG, M.A.; GASTAL, M.O.; GASTAL, E.L. 2004. Follicle dynamics and selection in mares. *Anim Reprod* 1:45-63.
33. GLISTER, C.; TANNETTA, D.S.; GROOME, N.P.; KNIGHT, P.G. 2001. Interactions between follicle-stimulating hormone and growth factors in modulating secretion of steroids and inhibin-related peptides by nonluteinized bovine granulosa cells. *Biol Reprod* 65(4): 1020-1028.
34. GLISTER, C.; KEMP, C.F.; KNIGHT, P.G. 2004 Bone morphogenetic protein (BMP) ligands and receptors in bovine ovarian follicle cells: actions of BMP-4, -6 and -7 on granulosa cells and differential modulation of Smad-1 phosphorylation by follistatin. *Reproduction.* 127(2): 239-54.
35. GOFF, A.K.; PONTBRIAND, D.; SIROIS, J. 1987. Oxytocin stimulation of plasma 15-keto-13,14-dihydro prostaglandin F-2 alpha during the oestrous cycle and early pregnancy in the mare. *J Reprod Fertil Suppl.*;35:253-260.
36. GONZALEZ-ANGULO, A.; HERNANDEZ-JAUREGUI, P.; MARQUEZ-MONTER, 1971. H. Fine structure of gonads of the fetus of the horse (*Equus caballus*). *Am J Vet Res.*;32(11):1665-1676.
37. IRVINE, C.H.; ALEXANDER, S.L.; MCKINNON, A.O. 2000. Reproductive hormone profiles in mares during the autumn transition as determined by collection of jugular blood at 6 h intervals throughout ovulatory and anovulatory cycles. *J Reprod Fertil* 118(1):101-109.
38. JOHNSON, J.; CANNING, J.; KANEKO, T., PRU, J.K.; TILLY, J.L. 2004 Germline stem cells and follicular renewal in the postnatal mammalian ovary. *Nature* 26;430(7003):1062.
39. KIMBALL, F.A.; HANSEL, W. 1974. Estrogen

- cytosol binding proteins in bovine endometrium and corpus luteum. *Biol Reprod.*; 11,566-577.
40. LUCY, M.C.; SAVIO, J.D; BADINGA, L; DE LA SOTA, R.L; THATCHER, W.W. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. 1992 *J Anim Sci* 70: 3615-3626.
  41. MIRAGAYA, M.H.; ABA, M.A.; CAPDEVIELLE, E.F.; FERRER, M.S.; CHAVES, M.G.; RUTTER, B.; AGÜERO, A. 2004. Follicular activity and hormonal secretory profile in vicuna (*Vicugna vicugna*). *Theriogenology* 61 (4):663-671.
  42. MONGET, P.; BESNARD, N., HUET, C.; PISSELET, C.; MONNIAUX, D. 1996. Insulin-like growth factor-binding proteins and ovarian folliculogenesis. *Horm Res* 45(3-5):211-217.
  43. PAN, G.; ZHAO, X.; CHEN, S.; JIANG, S.; HUANG, Y.; ZU, Y.; HUANG, H. 1992. The ovulation inducing effect of seminal plasma in the Bactrian camel. *Proceedings of the first International Camel Conference*. R&W Publications, Newmarket pag 159-161.
  44. PANGAS, S.A.; MATZUK, M.M. 2004. Genetic models for transforming growth factor beta superfamily signaling in ovarian follicle development. *Mol Cell Endocrinol.*, 15; 225(1-2):83-91.
  45. PERALTA-ZARAGOSA, O.; LAGUNAS-MARTÍNEZ, A.; MADRIR-MARINA, V. 2001. Transforming growth factor beta-1: structure, function, and regulation mechanisms in cancer. *Salud Publica Mex* 43(4):340-351.
  46. PIERSON, R.A. Folliculogenesis and ovulation. En: *Equine Reproduction*. McKinnon AO, Voss JL eds Lea & Febiger, Philadelphia, 1993, 161-172.
  47. RIVERA, G.M. AND FORTUNE, J.E. 2003. Selection of the dominant follicle and insulin-like growth factor (IGF)-binding proteins: evidence that pregnancy-associated plasma protein A contributes to proteolysis of IGF-binding protein 5 in bovine follicular fluid. *Endocrinology* 144 (2):437-446.
  48. ROBERTS, S.J., (ed.) *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases (Theriogenology)*. Third edition. Woodstock, Vermont. 1986.
  49. RÜSSE, I. 1983. Oogenesis in cattle and sheep. *Bibl Anat* 24:77-92.
  50. SAN MARTIN, M.; COPAIRA, M.; ZUNIGRA, J.; RODRIGUEZ, R.; BUSTINZA, G. ACOSTA, L. 1968. Aspects of reproduction in the alpaca. *J Reprod Fert* 16:395-399.
  51. SAWYER, H.R.; SMITH, P.; HEATH, D.A.; JUENGEL, J.L.; WAKEFIELD KENNETH, S.T.J.; MCNATTY, P. 2002. Formation of ovarian follicles during fetal development in sheep. *Biol Reprod* 66(4):1134-50.
  52. SHARP, D.C. AND DAVIS, S.D. Vernal transition. En: *Equine Reproduction*. McKinnon AO, Voss JL eds Lea & Febiger, Philadelphia, 1993, 133-143.
  53. SILVIA, W.J. 1999. The role of uterine and ovarian hormone in luteolysis: a comparison among species. *Reprod Domest Anim*, 34:317-378.
  54. TSAI, S.J.; WILTBANK, M.C. 1998. Prostaglandin F2alpha regulates distinct physiological changes in early and mid-cycle bovine corpora lutea. *Biol Reprod* 58(2):346-52.
  55. TSAFRIRI, A.; CHUN, S-Y. Ovulation. En: *Reproductive Endocrinology, surgery, and technology*. Vol 1 Adashi EY, Rock JA, Rosenwaks Z, eds Lippincott-Raven, Philadelphia, 1996. 235-249.
  56. TURNER, D.D.; GARCIA, M.C.; GINTHER, O.J. 1979. Follicular and gonadotropic changes throughout the year in pony mares. *Am J Vet Res* 40(12):1694-700.
  57. VANDERWALL, D.K.; SILVIA, W.J.; FITZGERALD, B.P. 1998 Concentrations of oxytocin in the intercavernous sinus of mares during luteolysis: temporal relationship with concentrations of 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F2 alpha. *J Reprod Fertil* 112(2):337-46.
  58. WANG, J.; ROY, S.K. 2004 Growth differentiation factor-9 and stem cell factor promote primordial follicle formation in the hamster: modulation by follicle-stimulating hormone. *Biol Reprod* 70(3): 577-85
  59. WATSON, E.D.; PEDERSEN, H.G.; THOMSON, S.R.; FRASER, H.M. 2000. Control of follicular development and luteal function in the mare: effects

- of a GnRH antagonist. *Theriogenology* 54(4):599-609.
60. WATSON, E.D.; BAE, S.E.; THOMASSEN,R.; THOMSON, S.R.; WOAD, K.; ARMSTRONG, D.G. 2004. Insulin-like growth factors-1 and -2 and Insulin-like growth factor-binding protein-2 in dominant equine follicles during spring transition and the ovulatory season. *Reproduction* 128(3): 321-9.
61. WILTBANK, M.C; GÜMEN, A.; SARTORI, R. 2002 Physiological classification of anovulatory conditions in cattle *Theriogenology* 57: 21-52.
62. ZIMMERMANN, R.C.; XIAO, E.; HUSAMI, N.; SAUER, M.V.; LOBO, R.; KITAJEWSKI, J.; FERIN, M. 2001 Short-term administration of antivasculare endothelial growth factor antibody in the late follicular phase delays follicular development in the rhesus monkey. *J Clin Endocrinol Metab* 86(2): 768-772.

