

1. Fisiología del ciclo estral

Agustín Góngora Orjuela

Introducción

Se analizan en este capítulo los mecanismos más importantes que suceden durante las diferentes etapas del ciclo estral (CE) en la vaca. Durante este intervalo de 18-21 días para las vacas con dos ondas de crecimiento folicular en sus ovarios y hasta de 25 a 27 días para las de tres y cuatro ondas, ocurren importantes eventos en el ovario, oviducto, útero y sistema nervioso que hacen posible la reproducción. Los avances en el conocimiento de estos aspectos han sido mayor en la vaca que en otras especies animales, lo que ha permitido manipular el CE con fines zootécnicos y desarrollar nuevos procedimientos que hoy tienen amplio uso en el campo de la biotecnología animal. Así se ha cambiado el concepto de que los bovinos tienen una ineficiencia reproductiva propia de la especie, atribuibles a la larga duración de la gestación y la característica de especie mono-ovular.

1.1 Características del ciclo estral

El evento principal de la reproducción en la hembra es el CE, porque la pubertad puede entenderse como el inicio de los ciclos estrales, la gestación como la prolongación de su fase progestacional, el posparto como el regreso al CE y la senescencia reproductiva como la cesación de los ciclos estrales.

El CE es el periodo comprendido entre dos estros consecutivos, (también se denomina ciclo ovárico o periodo inter ovulatorio), tiene una duración entre 18-24 días en las vacas con dos ondas de crecimiento folicular en sus ovarios y hasta de 23 a 27 días para las que presentan tres o cuatro ondas. Durante el CE ocurre una serie de cambios endocrinos como resultado de la interacción de las hormonas liberadas por el hipotálamo, la pituitaria, los ovarios y el útero. El CE presenta una fase folicular y una luteal, cada una con un periodo de desarrollo que antecede a una función principal (Roche et al., 1992). La fase folicular o estrogénica, comienza con el proestro que antecede al estro y la ovulación y la fase luteal comprende el metaestro, seguido por el diestro; la primera termina con la ovulación y el diestro con la luteolisis. En la fase folicular la cantidad de estrógenos que pueden detectarse en la sangre es alta, y en la luteal la hormona predominante es la progesterona. (Figura 1.)



Figura 1. Fases del ciclo estral (CE). Estro o calor, Metaestro (post-estro) Diestro y Proestro. En la **fase estrogénica**, o fase folicular (Proestro y estro) hay mayor influencia de los Estrógenos (E) y en la **Fase progestacional** o luteal hay predominio de la progesterona (P4) (Mataestro y Diestro).

La vaca ha sido clasificada como un animal poliéstrico continua, es decir, que durante todo el año presenta estros con una regularidad de 18-21 días, aunque se reconoce que las variaciones en la temperatura ambiente, la humedad, el fotoperiodo y el alimento, pueden limitar su actividad reproductiva durante ciertas épocas del año. (Lamothe-Zabaleta et al., 1991). Aunque las características del CE son similares entre razas, se reportan importantes diferencias entre los genotipos *Bos taurus* y *Bos indicus*. Este último presenta una menor duración e intensidad del celo, menor intervalo del estro a la ovulación, menor liberación de LH preovulatoria, menor tamaño del cuerpo lúteo (CL) y bajas concentraciones de progesterona (P4) en la fase luteal (Garverick y Smith, 1993).

El número de estudios acerca del CE en el trópico es menor, en comparación con el de los provenientes de países de la zona templada. En el *Bos indicus* los signos de estro se presentaron con mayor frecuencia en las horas de la noche y el comportamiento de monta se observó casi que exclusivamente en vacas en estro (Galina y Arthur, 1990). En Colombia, en ganado Holstein residente en Bogotá, el estro ocurrió en el 70 % de los animales entre las 16:00 y las 10:00 horas (Cardozo et al., 1994). También en Colombia, departamento de Antioquia, en la raza criolla Blanco orejinegro, se encontró que las vacas tenían de 3 a 4 ondas de crecimiento folicular con una duración inter estro de 23 a 25 días (Henao et al., 2004). En Brasil se confirmó que más del 50 % de las vacas Cebú presentaban estro entre las 18:00-6:00 horas (Pinheiro et al., 1998).

1.2 Neuroendocrinología del ciclo estral

En la hembra bovina, el inicio de la pubertad, requiere de la participación de un grupo especializado de hormonas que a través de múltiples eventos en forma coordinada inducen finalmente la secreción de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), la cual controla la madurez sexual y la función reproductiva. Esos eventos incluyen la combinación entre los impulsos excitatorios transinápticos, mediados por los neurotransmisores norepinefrina (NE), neuropéptido Y (NPY) y los inhibitorios por el ácido gamma aminobutírico (GABA) y los péptidos opioideos como la beta endorfina BE (Ojeda et al., 1997).

Antes de la iniciación de la actividad reproductiva durante la pubertad, se acepta que la secreción de GnRH está inhibida por los estrógenos y por otras moléculas que son antagonistas de moléculas que estimulan la secreción de GnRH. Dentro de estas últimas se cuentan el aspartato, el glutamato, el ácido homocistéico, la taurina, el factor liberador de la hormona del crecimiento, el factor insulínico de crecimiento 1 y la proinsulina. Cuando adviene la pubertad, dada la cesación de la inhibición de la liberación hipotalámica de GnRH, la secreción de la LH se hace más frecuente y se liberan mayores cantidades de la hormona. Así el crecimiento folicular que desde etapas tempranas viene ocurriendo, entra en un periodo de estabilización de la función reproductiva que entraña la aparición de CE irregulares, esto es, de menor duración con niveles sanguíneos de P4 menores a los propios del CE (revisado por Hernández y Prieto, 2008).

Estos péptidos facilitan la secreción de GnRH por vía autocrina o paracrina mediante la coordinación con receptores tirosinquinasa y la liberación de moléculas bioactivas de las células de glia con capacidad para estimular directamente la liberación de GnRH (Ojeda et al., 1997).

La secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) en los vasos del sistema porta-hipofisiario ocurre en forma pulsátil y actúa en la pituitaria anterior en donde se une a receptores específicos localizados en los gonadotropos, los cuales se hacen insensitivos si se secreta continuamente. El patrón de secreción de GnRH determina a la vez la secreción en forma pulsátil de la LH (Mihm et al., 1996).

En el año 2003 dos grupos de investigación que trabajaban separadamente reportaron el papel esencial de la Kisspeptina en la reproducción. Este neuropeptido de 145 aminoácidos es producto del gen kiss-1 que estimula la secreción de GnRH e interviene en el inicio de la pubertad. Se ha postulado que la kisspeptina sirve de puente entre los niveles de los esteroides sexuales y la regulación de las neuronas que secretan GnRH (De bond y Smith, 2014).

El hipotálamo fue el sitio en donde se encontró la mayor expresión de kisspeptina, aunque se localizó en otros sitios como la corteza, el cerebro medio, el tronco encefálico y la médula espinal (Brailoiu et al., 2005).

Además la kisspeptina interviene en la ingestión de alimento y en la homeostasis de la glucosa; por lo tanto en la regulación del metabolismo (Yeo SH, 2013). Adicional al papel de la kisspeptina, otras hormonas como la insulina,

la leptina y la ghrelina vienen siendo objeto de intensa investigación, con el propósito de conocer a mayor profundidad su importancia dentro del metabolismo y su relación con la reproducción.

Un hallazgo importante fue el descubrimiento de la leptina que es producida por el tejido adiposo, la cual se consideró en su momento el eslabón entre la nutrición y la reproducción, de allí su papel en el inicio de la pubertad junto con la kismetina.

1.3 Patrones hormonales durante el ciclo estral

El CE es regulado por las hormonas secretadas por el hipotálamo, hipófisis, ovario y útero. Se ha dividido en tres fases: folicular terminal (maduración del folículo preovulatorio), estro y fase luteal. En la hembra vacía la fase folicular comienza una vez ocurre la regresión del cuerpo lúteo (CL).

Al caer las concentraciones de P4 en los días 17-18 se incrementa la secreción en forma pulsátil de la LH, aumentando a la vez las concentraciones de estrógenos. Cuando llegan a sus máximos niveles se estimula un pico de secreción de LH que alcanza hasta 50ng/ml comparado con las concentraciones basales de 1-2 ng/ml, este pico ocasiona la maduración nuclear del oocito, la ruptura del folículo y la luteinización de las células de la granulosa y de la teca interna (Lucy et al., 1992).

Los estrógenos inducen las manifestaciones del celo y se sintetizan en su mayor parte en las células de la granulosa (CG) del folículo maduro, el principal estrógeno es el 17β estradiol y alcanza concentraciones máximas al momento del celo de 7.5 pg/ml. Durante el resto del CE los estrógenos mantienen niveles basales con leves fluctuaciones cuando se presenta un FD en algunas de las ondas, estos niveles no ocasionan síntomas de celo debido a la existencia de un CL secretando P4 (Lucy et al.,1992).

Las concentraciones de P4 se incrementan en forma continua durante la fase luteal temprana (días 1-5) y alcanzan máximas concentraciones entre los días 8-11. La P4 es la hormona clave que determina la duración del CE, ya que ejerce una retroalimentación negativa sobre la LH suprimiendo la liberación de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) por vía neuronas inhibitorias (Mihnm et al., 1996).

Existen leves cambios en la frecuencia pulsátil de LH durante la fase luteal, debido a las altas concentraciones de P4. Hasta el momento no existe claridad si estos cambios son debidos a un patrón variable en la producción de E2 o por el contrario a otro mecanismo de retroalimentación no identificado (Mihm et al., 1996). Antes de la emergencia de cada onda folicular se presentan elevados picos de FSH. (Ginther et al., 1996). (Figura 2.)

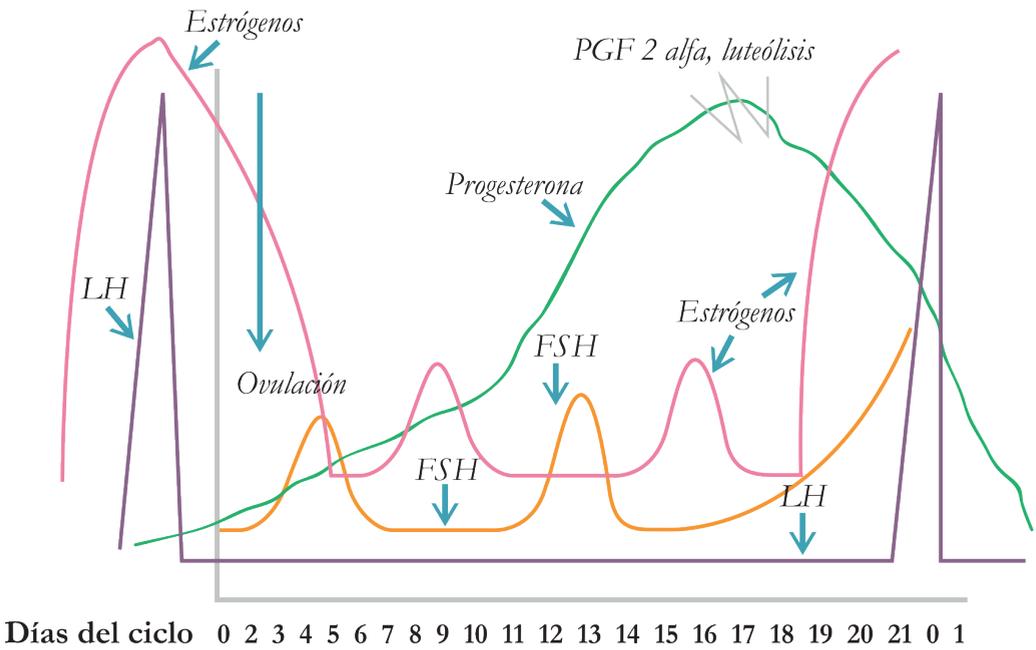


Figura 2. Representación gráfica de los niveles (valores promedio relativos) séricos de FSH, LH, Progesterona y Estrógenos en el ciclo estral de la vaca.

1.4 Factores que afectan el ciclo estral

El estrés es el principal factor que afecta la fisiología del CE; por tanto, la reproducción del animal es una medida inequívoca de su bienestar (Moberg, 1985; Dobson y Smith 2002; Etim y Oguike, 2014) .

Las hormonas relacionadas con el estrés afectan la función sexual en los tres niveles del eje hipotálamo-hipófisis-gónada (H-H-G). A nivel del cerebro inhiben la secreción de GnRH, en la hipófisis, interfieren con la liberación de LH y en las gónadas afectan la estimulación de las gonadotropinas para la secreción de los esteroides sexuales (River y Riviest, 1991).

El estrés nutricional tiene un profundo impacto en la actividad reproductiva, al igual que el ocasionado por los factores climáticos, aunque ambas condiciones deberían analizarse por separado (Moberg, 1985).

La interacción social, que ha sido objeto de pocos estudios, tiene gran importancia en la reproducción, cuando se aumenta el tamaño del hato, las vacas dominantes agreden a las más jóvenes, las cuales presentarían CE más cortos. Igualmente el transporte y las actividades de manejo diarias pueden prevenir la secreción preovulatoria de LH (Moberg, 1985).

El anestro posparto es otra condición que afecta el CE, el cual se ve agravado por el amamantamiento. El reinicio de la actividad ovárica se retarda por las menores concentraciones basales de LH, debido a una disminución en la frecuencia y amplitud de los pulsos. Los efectos del estrés sobre la reproducción animal pueden ser ampliados por los lectores en Góngora y Cardoso (2002).

1.5 Oogénesis y foliculogénesis

Los procesos de oogénesis (formación de células germinales) y la foliculogénesis (formación de folículos), se inicia muy temprano en la vida fetal de la hembra bovina (120-140 días de gestación) y finaliza con la formación de un determinado número de folículos primordiales (FP) (Wandji et al., 1992; Hernandez-Medrano et al., 2012). Durante la oogénesis se forma “una reserva de células primordiales”, mediante un proceso que inicia con la migración de las células germinales primordiales (CGP), mediante movimientos ameboides desde la porción endodérmica del saco vitelino hasta la cresta genital (George y Wilson, 1994), allí proliferan como oogonias dentro de ciertas estructuras llamadas nidos o quistes ováricos

(Monniaux et al., 2014). Las oogonias crecen y se convierten en oocitos primarios los cuales inician la profase meiótica. La migración de las CGP ocurre entre los días 30-64 de la gestación (Russe y Sinowats, 1991) y se da como respuesta a señales quimiotácticas recibidas desde la cresta genital (Oktem y Oktay, 2008b).

La ruptura de los nidos ováricos permite la liberación de los FP que tienen un tamaño de 30 μm , estos permanecen en arresto meiótico (profase I) y se caracterizan por estar conformados por un oocito rodeado de una capa de células somáticas (Monniaux et al., 2014).

La oogénesis requiere de tres fases, la primera es la proliferación de las oogonias que se divide activamente, una fase meiótica que permite la formación del oocito primario y una tercera fase de intensa degeneración de CGP. Los oocitos que sobreviven a la fase degenerativa quedan detenidos en el estado de diplotene de la primera división meiótica. Los oocitos en esta fase de desarrollo se denominan oocitos primarios y están rodeados por una capa plana de células de la granulosa (CG), dando lugar a la formación de FP (Monniaux et al., 1997).

Existe una estrecha relación entre las CGP y las células somáticas, de las cuales depende su viabilidad, así que los oocitos que no terminan rodeados por las CG se degeneran (Ohno y Smith, 1964). La comunicación e intercambio de nutrientes entre el oocito y las CG se lleva a cabo a través de uniones permeables (Gutiérrez et al., 2000). Un polipéptido producido por las CG llamado “inhibidor de la maduración del oocito” es el responsable entre otras sustancias de mantener el arresto meiótico (Tsafiriri et al., 1982). Esta inhibición no es específica de especie ya que el fluido folicular de la vaca inhibe la maduración de los oocitos de hámster y rata (Gwatkin y Anderson, 1976, Tsafiriri et al., 1977).

La tres fases de la oogénesis se superponen y presentan importantes diferencias cronológicas entre las especies estudiadas, además tres características importantes distinguen el proceso: i) la fase de proliferación de las CGP está estrictamente limitada a la vida fetal o neonatal; por lo tanto, durante la vida postnatal los folículos se desarrollan exclusivamente de la reserva formada, ii) no se conoce el significado biológico de la marcada pérdida de CGP, y iii) no existe una clara relación entre el número de FP y la tasa de ovulación con la duración de la vida reproductiva (Monniaux et al., 1997).

El crecimiento in vivo del oocito se da por la comunicación bidireccional con las CG que lo rodean. De esta forma, el oocito promueve la proliferación de las CG

(Otsuka et al., 2000; Vitt et al., 2000) y la diferenciación (Eppig, 2001) mientras las CG apoyan su crecimiento (Brower y Schultz, 1982) y contribuyen a mantener el arresto y el reinicio de la meiosis (Chesnel et al., 1994). Esta comunicación se da a través de las proyecciones transzonales que se extienden desde las CG, atraviesan la zona pelúcida y llegan hasta al oolema (Makita y Miyano, 2014). A través de estas proyecciones se da el intercambio de metabolitos, aminoácidos, pequeñas moléculas y nucleótidos (Anderson y Albertini, 1976; Brower y Schultz, 1982).

La foliculogénesis se define como el proceso en el cual los FP crecen y se diferencian en folículo antrales, posteriormente en folículos preovulatorios, los cuales maduran y ovulan después de la secreción de la fuente de LH (Silva et al., 2009).

Los FP empiezan su crecimiento y se convierten en folículos primarios, posteriormente en folículos secundarios, estos crecen y se convierten seguidamente en folículos antrales (se ha formado el antro folicular), en este estado son dependientes de las gonadotropinas las cuales favorecen el crecimiento continuo hasta el estado de folículo preovulatorio (Silva et al., 2009).

Los mecanismos responsables del crecimiento inicial de los FP aún no se conocen con exactitud. Se ha sugerido que comienza una vez que son formados, y de acuerdo con la posición de la red ovárica (Findlay et al., 1996), siguiendo un gradiente de intensidad de la periferia al centro del ovario, el cual puede estar asociado con la evolución y formación de la gónada durante la vida embrionaria (Mariana et al., 1991). El crecimiento y desarrollo de los FP hasta el estado ovulatorio se asocia con una marcada proliferación, reclutamiento y diferenciación de células somáticas, además de cambios en el tamaño y morfología del ovocito (Knight y Glister, 2001).

En el ovario fetal, la formación de los folículos está probablemente controlada por interacciones locales célula-célula (Driancourt y Thuel, 1998; Knight y Glister, 2001). En el humano y en la oveja, el oocito comienza su crecimiento cuando se forman 15 CG (Gougeon y Chainy, 1987). En el bovino este punto crítico está en 40 CG (Braw-Taly Yossefi, 1997). En terneras recién nacidas la transición de las CG a la forma cuboidal es seguida por cambios estructurales del oocito; sin embargo, el momento exacto en el cual comienza la fase de crecimiento es desconocido (Mhawi et al., 1991).

Las citoquinas, unas proteínas solubles de bajo peso molecular con propiedades inmunoregulatorias, juegan un papel esencial durante la foliculogénesis.

Recientemente más conocidas como factores de crecimiento (FC), actúan sobre el crecimiento, diferenciación y función celular. Las citoquinas incluyen las interleuquinas (ILs), los factores estimulantes de colonias (CSFs), los factores transformantes de crecimiento (TGFs), los factores de necrosis de tumor (TNFs) y hormonas peptídicas como la prolactina. Todas esas moléculas son producidas por diversos tipos de células (Field et al., 2014).

En los folículos preantrales o antrales pequeños la vascularización es escasa; por lo tanto, los mecanismos paracrinos pueden ser más importantes que los endocrinos, quizás esta es la causa más probable por la que los FC y otros relacionados estructuralmente como las citoquinas tengan una mayor importancia que las gonadotropinas. Las CG de los FP y folículos antrales pequeños de ovarios de fetos y neonatos expresan receptores para el factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF), factor de crecimiento epidermal (EGF) y factor de crecimiento similar a la insulina (IGF); sin embargo, las acciones paracrinas y autocrinas aún no se conocen (Wandji et al., 1992a, b). Los FC de origen endocrino solo tienen importancia durante el proceso de vascularización folicular (Monniaux et al., 1997).

Un área de reciente interés que viene siendo desarrollada gracias a los avances en la ultrasonografía y los marcadores hormonales, es el recuento de la población total de folículos antrales (PFA) mayores de 1 mm. Esta valoración, podría constituirse en el futuro, en una práctica común en evaluaciones clínicas o en la selección de animales para procedimientos biotecnológicos, dado que se podría predecir la respuesta a los tratamientos (Jaiswal et al., 2004; Rico et al., 2009). En estudios preliminares se encontró una amplia variación en la reserva de folículos primordiales en individuos de la misma especie (Monniaux et al., 2014). Hasta el momento la PFA por onda en el ganado *Bos indicus* fue mayor que para el *Bos taurus* (Carvallo et al., 2008).

La determinación de los niveles plasmáticos de la hormona antimülleriana (MAH por sus siglas en inglés), una glicoproteína que pertenece a la familia del TGF- β y que se expresa únicamente en las células de la granulosa del ovario, ha surgido como un marcador de la función ovárica (Viser et al., 2006) y un predictor de la PFA. En un reciente estudio en novillas Nelore y Holstein, la PFA se correlacionó positivamente con los niveles de MAH. Adicionalmente las novillas Nelore tuvieron mayores concentraciones de MAH y PFA que las Holstein (Batista et al., 2014).

1.6 Desarrollo folicular

El ovario es el sitio en donde se desarrollan y maduran los gametos de la vaca, en la corteza se localizan todos los oocitos en los diferentes estado de desarrollo, rodeados de células somáticas conformando así los folículos, (figuras 3 y 4). En la parte interna del ovario se encuentra la médula, que está conformada por tejido conectivo y allí se localizan los vasos sanguíneos que provienen de la circulación general (Silva et al., 2009).

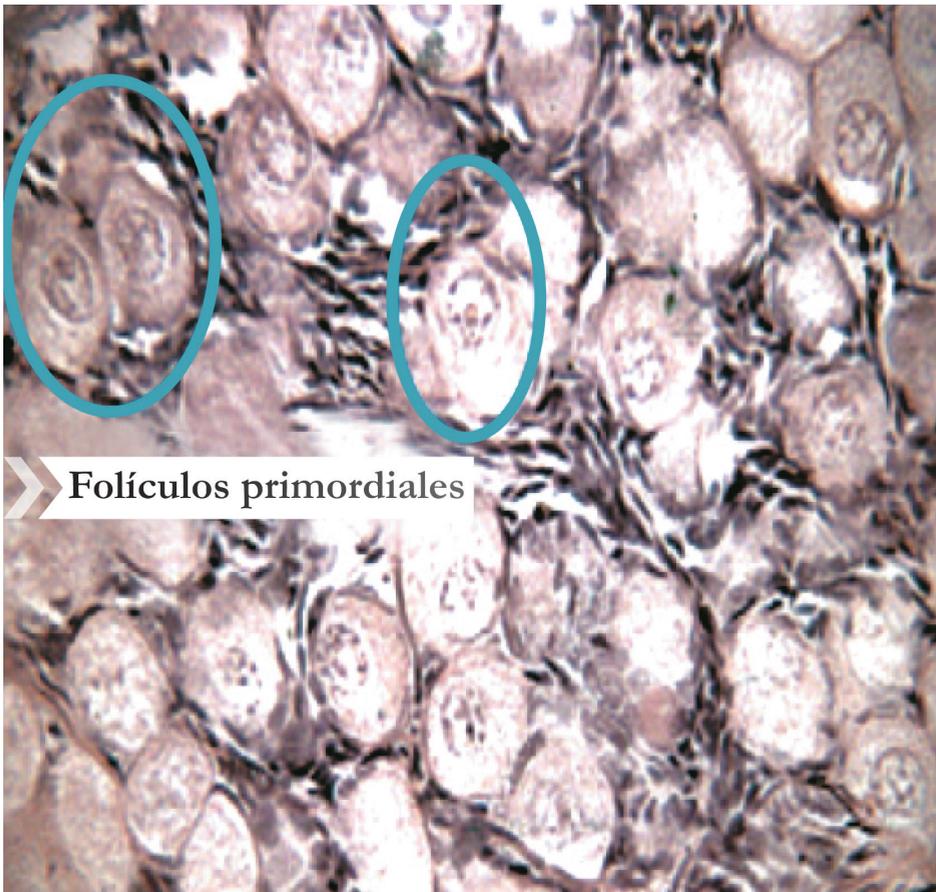


Figura 3. Corte histológico de la corteza del ovario de la vaca, obsérvese la cantidad de folículos primordiales en diferentes estado de desarrollo.

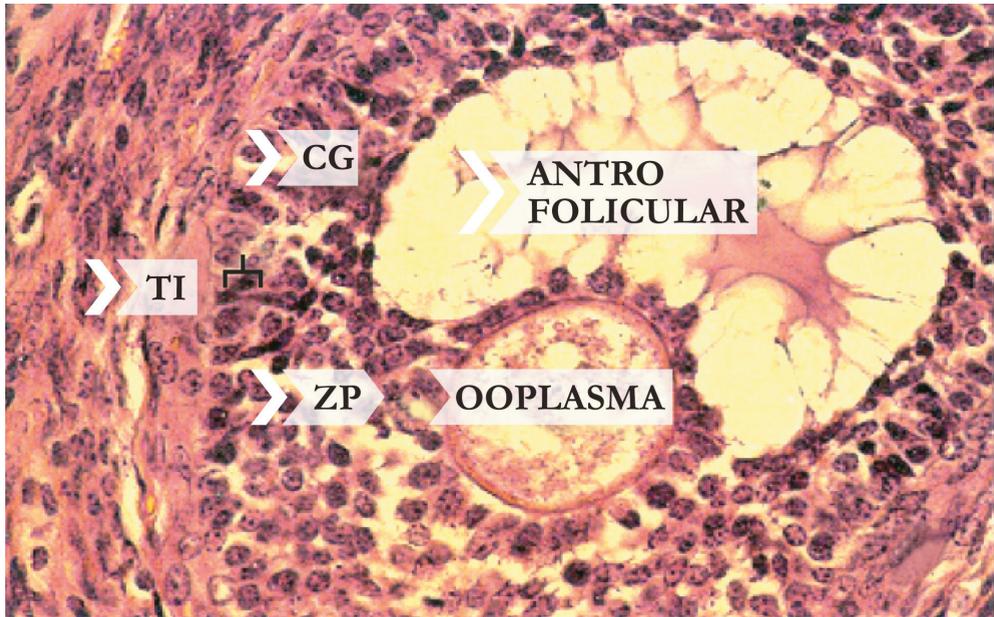


Figura 4. Folículo secundario obsérvese el oocito rodeado de la teca interna (TI), varias capas de células de la granulosa (CG) y de la zona pelúcida (ZP). Además la formación del antro folicular.

Los mecanismos responsables del crecimiento inicial de los folículos primordiales no se conocen, en este periodo, las gonadotropinas no se requieren, por lo tanto, son los reguladores locales del ovario los que están directamente implicados. Se ha sugerido que su crecimiento comienza en el orden en que son formados y según su asociación con la rete ovárica (Findlay et al., 1996). El crecimiento folicular involucra el paso de un FP que ha estado en arresto meiótico a una fase de crecimiento, caracterizada por tres eventos principales: cambio de forma de las células de la granulosa (CG) de escamosa a cuboidal, proliferación de las mismas y alargamiento del oocito (Silva et al., 2009).

El desarrollo folicular involucra dos fases, la primera conocida como desarrollo folicular basal la cual está principalmente bajo el control de los FC que tiene un origen paracrino. Durante esta fase la FSH puede ejercer un efecto mitogénico indirecto sobre las CG por un aumento en la expresión de los FC o de sus receptores. La segunda fase se conoce como desarrollo folicular terminal y depende estrictamente de las gonadotropinas, el crecimiento es rápido y ocurre un agrandamiento del antro folicular debido a importantes cambios en la diferenciación

de las células foliculares, el folículo preovulatorio adquiere alta capacidad esteroideogénica y produce altas concentraciones de estradiol (E2); sin embargo, la capacidad del folículo para ovular solo se adquiere durante las últimas horas del desarrollo folicular (Monniaux, 1997).

El crecimiento folicular terminal sigue un patrón de “ondas de crecimiento folicular” el cual fue descubierto con la aparición del ultrasonido. En los rumiantes las ondas foliculares se presentan antes de la pubertad (Hopper et al., 1993), en la fase luteal del CE y durante los primeros 2 trimestres de la preñez (Ginther et al., 1989; 1996).

En el bovino se han identificado de dos a cuatro ondas de crecimiento folicular (Ginther et al., 1989) y más del 95% de los CE tienen entre 2-3 ondas de crecimiento (Adams, 1999). Aunque no existe acuerdo sobre la preponderancia del tipo de onda, varios estudios señalan un predominio del patrón de 2 ondas (Bleach et al., 2004; Burns et al., 2005), mientras otros han encontrado una mayor preponderancia del tipo de 3 ondas (Nosseir, 2003; Celik et al., 2005). Cabe resaltar que los dos ovarios funcionan como una sola unidad (Adams et al., 2008), aunque se ha observado una mayor actividad folicular en el ovario derecho (Casida 1935; Rajakoski, 1960).

Dentro de cada onda se suceden las fases de reclutamiento, selección y dominancia, al inicio de cada onda un número de folículos inicia su crecimiento, uno de ellos alcanza un crecimiento mayor y se selecciona como FD que será el responsable de la atresia del resto de folículos. La primera onda emerge el día de la ovulación (día 0), la segunda el día 11 o 12 (de dos ondas) y en el caso de presentar tres ondas, la segunda se da en el día 8 o 9 y la tercera alrededor del día 16 del ciclo. El FD de la última onda es el folículo ovulatorio y la duración del ciclo estral dependerá del número de ondas (Ginther et al., 1996). En síntesis existirán animales con CE cortos (18-21 días) y otros con CE largos (22- 24 días). (Figura 5.)

Un mecanismo importante del desarrollo folicular es “la desviación folicular”, que consiste en la selección de un solo folículo dentro de un grupo que han tenido una fase de crecimiento común después de la emergencia de una onda, pero luego ocurre un cambio entre las tasas de crecimiento entre el FD y los subordinados (Fortune et al., 2001; Ginther et al., 2001).

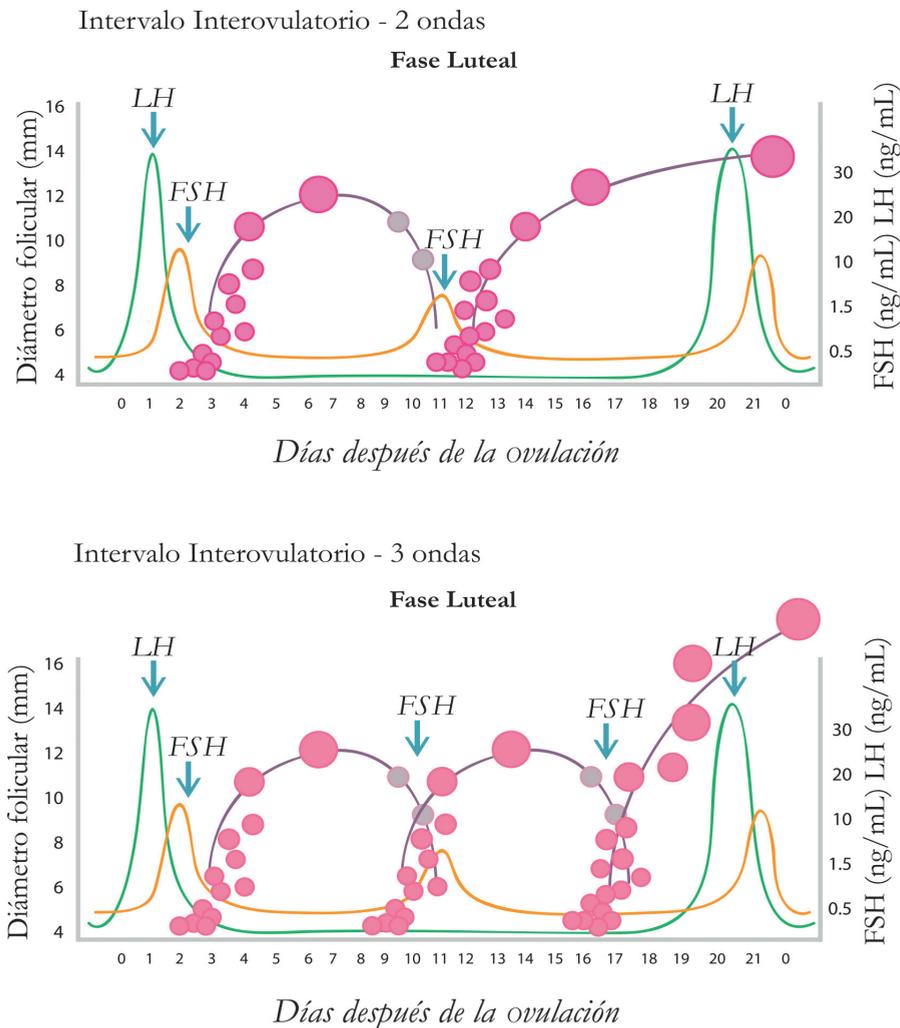


Figura 5. Esquema representativo de la dinámica folicular y niveles de LH y FSH en vacas con 2 y 3 ondas de desarrollo folicular (adaptado de Adams et al., 2008).

En algunas razas cebuínas como la Nelore, la desviación folicular ocurre a los 2.5 días después de la ovulación cuando el FD alcanza 2.6 mm de diámetro y el FD alcanzó la capacidad ovulatoria a los 7 mm (Gimenes et al., 2008). En ganado Holstein la desviación folicular se presentó a los 2.8 días después de la emergencia de la onda folicular, el FD alcanzó 8.5 mm y el folículo subordinado presentó 7.2 mm (Ginther et al., 1996).

El FD controla el desarrollo de los otros folículos a través de hormonas como el estradiol, la inhibina, la activina, la folistatina y FC que actúan en forma local o sistémica (Lucy et al., 1992). Se ha sugerido que el mecanismo de selección y atresia folicular es mediado vía apoptosis (muerte celular programada) (Yoshimura, 1997). Mediante estudios de ultrasonido en tiempo real, se han observado los cambios en el diámetro y la densidad vascular en la pared del FD, después de alcanzar los 10 mm, la densidad vascular del FD fue mayor que la de los folículos subordinados y continuó en aumento a medida que se acercaba la ovulación. Los resultados de estos estudios sugieren que un suministro sanguíneo apropiado a los folículos es esencial para establecer la dominancia folicular (Acosta, 2007).

Un folículo primordial tarda entre 60-100 días para convertirse en el FD, por tanto, lo que ocurre en la vaca en los dos últimos meses es esencial para predecir con exactitud los resultados de un programa para mejorar la eficiencia reproductiva. La lactancia y el balance energético afectan el desarrollo folicular, lo que predispone a la presentación de quistes foliculares, baja fertilidad y una pobre respuesta a los programas de sincronización (Lucy et al., 1992).

Es de interés anotar que el desarrollo folicular no se afecta por la presencia ipsi o contralateral del CL, a pesar que en el bovino un 70% de las ovulaciones ocurren en el ovario derecho (Punwantara et al., 1992).

1.7 Comportamiento sexual durante el celo

La duración de la conducta de celo puede ser breve, de 3 horas o prolongada hasta 28 horas. En general el promedio es 12 a 16 horas, la duración es el intervalo entre la primera monta y la última monta observada, la ovulación ocurre aproximadamente 30 horas después de iniciado el estro. El signo más notorio del celo es la aceptación o la inmovilidad de la hembra al ser montada por el macho o por sus compañeras de grupo, aunque no es el único criterio, ya que otros comportamientos pueden ser exhibidos como topeteos, intentos de monta, montas homosexuales, micción frecuente, inquietud combinada con bramidos y presencia de moco cervical (Baruselli et al., 2007).

La determinación del momento exacto del inicio del celo es un punto crítico, porque el estado de inmovilidad de la hembra es muy breve (3-4 segundos) para que sea detectado con facilidad por observadores experimentados.

Existe una larga variación individual en la duración del celo, lo que complica la detección del mismo. En novillas Sanmartineras la duración del celo mediante observación fue de 14.1 ± 0.8 horas, mientras en novillas Brahman fue de 9.39 ± 0.66 horas (Góngora y Hernández, 2006).

Durante las últimas décadas se ha observado una reducción en la duración del celo, especialmente en el ganado Holstein de alta producción, lo que hace más difícil la identificación de las vacas (Chanvallon et al., 2014). En la década de los 80 la duración era de 18-20 horas, mientras a partir del 2000 se empezó a observar una reducción de 4-8 horas (Kerbrat et al., 2004; Roelofs et al., 2005). Se especula que la menor duración del celo en estas vacas, se debe a una disminución en los niveles de E2, por el aumento del metabolismo de ese esteroide (Witbank et al., 2006). Adicional a esto, se planteó que había una reducción en la fertilidad de las vacas Holstein de alta producción, como consecuencia de la excesiva selección genética hacia la producción de leche (Dobson et al., 2007).

Se conoce que la expresión del estro está influenciada por múltiples factores entre ellos relacionados con la vaca, la producción de leche, las cojeras, la jerarquía, las condiciones ambientales, la nutrición, el parto, la temperatura y humedad entre otros (Diskin y Sreenan, 2000; Roelofs et al., 2005; Roelofs et al., 2010).

Uno de los factores que más influye en la reducción de la duración e intensidad del estro es el estrés por calor (EC) lo que dificulta la detección de los animales en celo. Con base en esta observación, se ha propuesto que en los días de más altas temperaturas ambientales, se inseminen las vacas al inicio del celo, lo que mejora las tasas de concepción (Badinga et al., 1985).

En ganado Holstein se reporta una reducción en la duración del estro (10.2 horas en invierno frente a 5.3 horas en verano; Arthur y Rahim, 1984). Una situación similar se observó en ganado Brahman en el que la diferencia fue de 6 horas entre las dos épocas (Plasse et al., 1970).

El comportamiento del estro es menos intenso en las vacas lactantes comparado con las no lactantes y las novillas (Thatcher, 1996), hecho que fue atribuido a las menores concentraciones de E2 en el proestro (de la Sota et al., 1993).

Los anteriores aspectos ponen en evidencia los efectos que podría ocasionar en el futuro el calentamiento global sobre la fisiología reproductiva de la vaca, situación que amerita el desarrollo de estrategias para disminuir su impacto (ver Góngora y Hernández, 2010).

Lo anterior ha hecho que sea difícil el manejo de los programas de inseminación artificial. La falla en la “detección del celo” se considera el mayor problema de la industria ganadera moderna, lo que ha permitido el desarrollo de diferentes tipos de ayuda para su detección, entre ellos, telemetría (Yoshioka et al., 2010), perros entrenados (Fischer-Tenhagen et al., 2011), uso de rayos infrarrojos (Talukder et al., 2014) entre otros. La anterior circunstancia ha favorecido el desarrollo de los protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo, mediante el manejo hormonal del celo y la ovulación.

1.8 Ovulación

La ovulación en sentido etimológico estricto, denota la liberación del óvulo, como resultado de una serie de cambios en varios de los compartimentos del folículo, inducidos por la fuente de LH (Tsafiri y Dekel, 1994). (Figura 6.)

Se ha planteado que la ovulación ocurre como respuesta a un proceso inflamatorio (Espey, 1980), dado el daño que se observa en los tejidos durante el proceso, allí se han identificado sustancias mediadoras del sistema inmune y de la respuesta inflamatoria, que contribuyen a mantener la homeostasis del tejido ovárico (Richards et al., 2008; Sheldon et al., 2014; Field et al., 2014).

La maduración del oocito, como otros procesos de la ovulación, es regulada por las gonadotropinas hipofisarias. Los eventos celulares en la ovulación incluyen adenosin monofosfato cíclico (cAMP), esteroides, prostaglandinas (PGs), activador del plasminógeno (PA), leucotrienos, bradiquinina e histamina y el sistema renina-angiotensina (SRA) que regula principalmente la presión sanguínea sistémica y la homeostasis de fluidos (Yoshimura, 1997). Los componentes del SRA ovárico son regulados por estimulación endógena o exógena de gonadotropinas (Yoshimura, 1997).

Se demostró que la P4 induce distensión de los folículos de cerdas, mientras la FSH y los estrógenos no. Por otro lado, el efecto de la LH sobre el desarrollo folicular disminuyó por acción del cAMP y se previno por un inhibidor de la 3 β -hidroxiesteroide dehidrogenasa. A su vez esta inhibición pudo revertirse con el suministro de P4 exógena.

En igual sentido, la administración de aminoglutetimida y cianocetona, bloquean el ciclo sintético de la P4 por inhibición de la ruptura folicular. La hipofsectomía de ratas el día del estro bloqueó la ruptura folicular; sin embargo, esta

fue revertida por 3 inyecciones consecutivas de P4. Los anteriores estudios demuestran que los esteroides juegan un papel esencial en la ovulación y más probablemente la P4 está involucrada en la ruptura folicular (Tsafiri y Dekel, 1994).

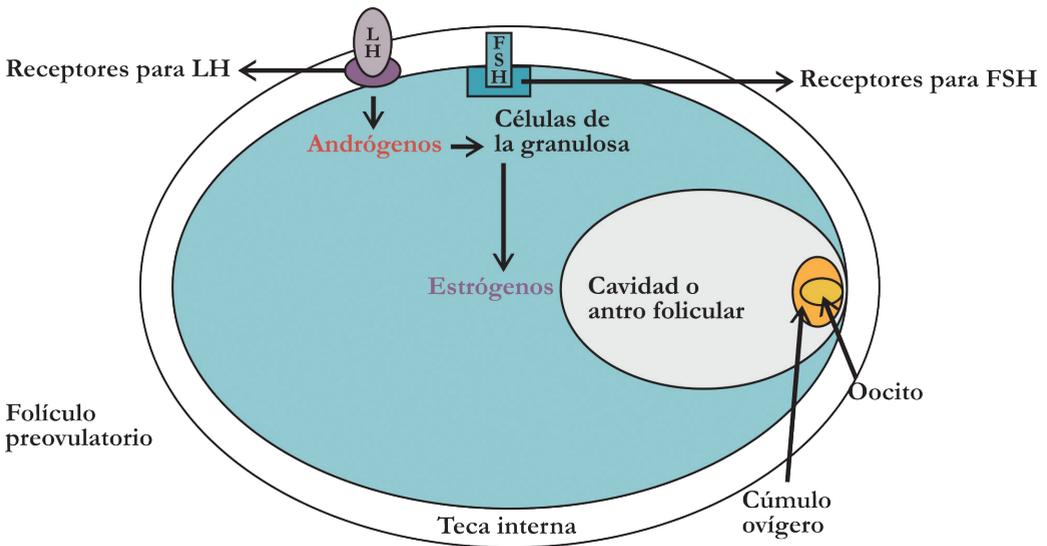


Figura 6. Acción de la LH sobre el folículo preovulatorio. La LH estimula las células tecales, estas producen andrógenos, principalmente Androstenediona, las cuales son tomadas por las células de la granulosa, y por acción de la FSH convierten los Andrógenos en E, especialmente 17- β estradiol.

Los cambios estructurales más importantes que permiten la ovulación, se relacionan con el tejido conectivo de la túnica albugínea y de la teca externa. A medida que se acerca la ovulación hay disolución de la matriz extra celular (MEC) y disociación del colágeno de la teca, los vasos sanguíneos invaden el espacio del antro folicular y se desarrolla una extensa red vascular debido a la producción de factores angiogénicos (Tsafiri y Dekel, 1994). La degradación de la MEC ocurre en diferentes momentos después de la liberación de la fuente de LH, lo que sugiere que existen diferentes mecanismos y enzimas envueltas en este proceso, además la MEC del CL se sintetiza nuevamente durante el desarrollo luteal (Irving-Rodgers et al., 2006). El proceso de angiogénesis (formación de vasos sanguíneos) hace parte de la luteinización y sus mecanismos no han sido completamente resueltos.

El factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF) es uno de los más potentes péptidos angiogénicos. Durante la luteinización, ocurre una significativa hipertrofia e hiperplasia de las células de la teca, las cuales migran dentro de lo que fuera la cavidad folicular y se dispersan entre las células de la granulosa luteinizadas, las cuales acumulan retículo endoplásmico liso, las mitocondrias se hacen redondeadas y acumulan gránulos de glicógeno (Niswender et al., 1994).

Se estableció que el proceso de luteinización ocurre bajo un ambiente hipóxico que promueve la síntesis de P4 a través de StAR y la expresión 3b-HSD durante la fase inicial de formación del CL (Yoshioka et al., 2014).

1.9 Formación y función del cuerpo lúteo

El cuerpo luteo (CL) es un glándula endocrina temporal, necesaria para el mantenimiento de la preñez en los mamíferos (Niswender et al., 1994). Es una de las estructuras con mayor desarrollo vascular (O'Shea et al., 1989). (Figuras 7 y 8). El crecimiento del CL está asociado con un notable incremento del flujo vascular en el que intervienen principalmente los factores de crecimiento de endotelio vascular (VEGF) y el factor de crecimiento fibroblástico (FGFs), además de otros reguladores locales entre ellos los factores de crecimiento asociados a la insulina (IGF-I y IGF-II) (Webb et al., 2002).

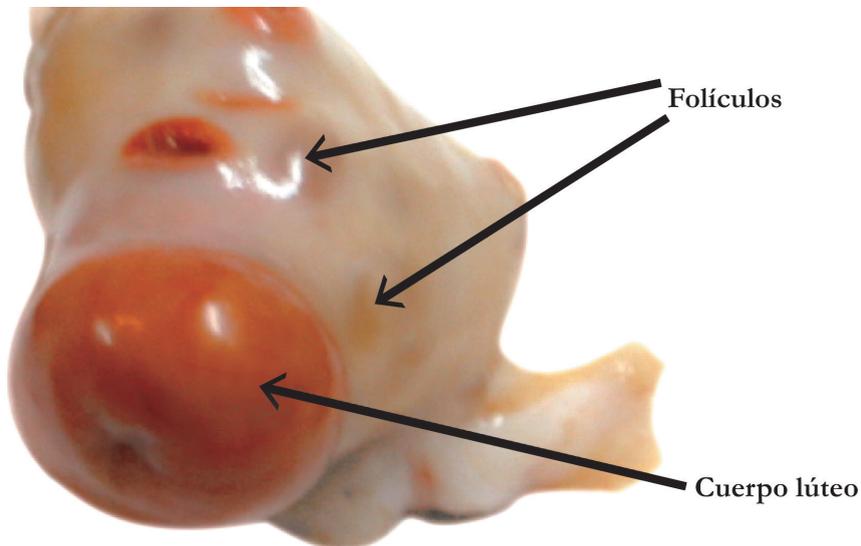


Figura 7. Ovario de la vaca. Obsérvese la presencia de un CL (tipo corona) y varios folículos sobre distintos sitios de la superficie del ovario.

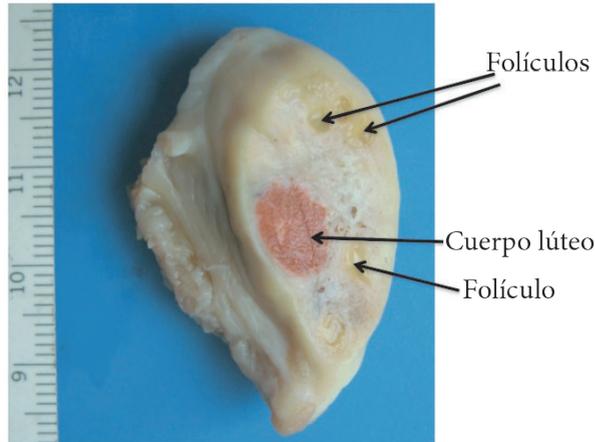


Figura 8. Vista de la cara interna del ovario de una vaca Cebú gestante, donde se observan folículos y un cuerpo lúteo.

La mayor parte del parénquima del CL está constituido por células luteales y aproximadamente un 20 % lo conforman elementos de soporte como células endoteliales, pericitos, macrófagos, células musculares y fibroblastos. Se han identificado dos tipos de células luteales: grandes y pequeñas, las cuales difieren en su morfología, origen y funciones bioquímicas. Las células luteales grandes (CLG) provienen de la granulosa y producen más del 80% de la P4 durante la fase luteal del CE, mientras que las células luteales pequeñas (CLP) se originan de la teca interna y producen menores cantidades de P4. (Fields et al., 1996). (Figura 9).

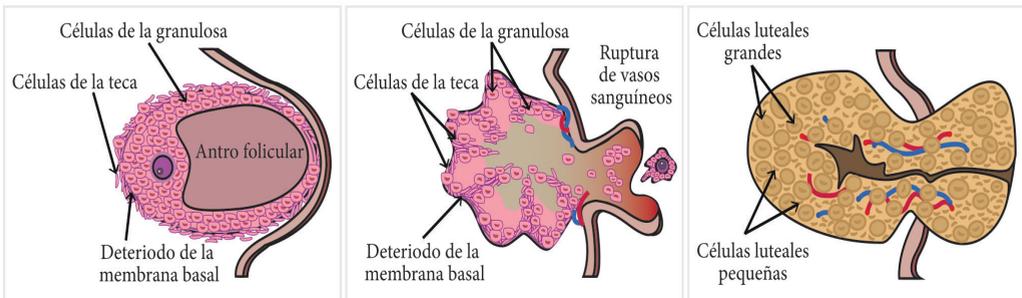


Figura 9. Esquema de un folículo ovulatorio, a partir del cual se forma el cuerpo lúteo. Después de la ovulación, a partir de las células de la granulosa y de la teca interna, por acción de la LH, se forman las células luteales grandes y las células luteales pequeñas del CL, respectivamente.

Se pensó que el mayor tamaño del CL guardaba relación con los niveles sanguíneos de P4; sin embargo, se demostró que esto es cierto hasta el día 8 del CE, mas no después (Mann, 2009).

Durante el CE, el CL presenta dos poblaciones de gránulos los cuales contienen oxitocina y neurofisisina, durante la preñez, los primeros se reemplazan por un contenido hasta el momento desconocido (Fields et al., 1996).

El CL secreta 14 proteínas con pesos moleculares de 20-70 kilodaltons (Kd) y puntos isoeléctricos de 5.5 a 8.0. Siete de estas se observaron únicamente el día 3 del ciclo, de las cuales 3 se identificaron como isoformas de apolipoproteína E; las otras 7 proteínas se encontraron el día 7 y se observaron por el resto del CE y la preñez. A pesar de que no se conoce con exactitud la función de estas proteínas, se cree que tienen importancia en los procesos fisiológicos del CL y mantenimiento de la preñez (Fields et al., 1996).

La función principal del CL es la secreción de P4, la cual prepara el endometrio para la implantación y mantiene la preñez temprana. Si la preñez no ocurre, el CL regresa para reiniciar los eventos endocrinológicos del siguiente ciclo. Su función la regulan la adenohipófisis, el útero, el ovario y el conceptus, mediante un balance entre estímulos luteolíticos y luteotrópicos. La LH es una hormona esencialmente luteotrópica (Garverick y Smith 1993).

Se cree que los mecanismos de comunicación intercelular en el CL son importantes para mantener su función, las uniones Gap (Estructuras vacías de $\approx 3\text{nm}$ que aparecen en la unión de las membranas celulares) y varias conexinas se han identificado en los folículos, el CL y en los vasos sanguíneos ováricos. Las uniones Gap permiten la intercomunicación de varias células y probablemente están involucradas en la producción de hormonas esteroides, señales de transducción y lúteolisis (Grazul-Bilska et al., 1997).

La vida media del CL no siempre es constante ya que una regresión prematura puede ocurrir durante la pubertad (González-Padilla.,1975) y durante el posparto (Zollers et al., 1991) posiblemente debido a una liberación repentina de PGF2a.

1.10 Regresión del cuerpo lúteo

La exposición del útero a la P4 durante la fase luteal temprana y media es esencial para iniciar la producción de PG y la lúteolisis. La P4 incrementa el almacenamiento de fosfolípidos en las células endometriales, lo que favorece la actividad de la prostaglandina sintasa, la cual es necesaria para la conversión de ácido araquidónico (AA) a PGF (Bazer et al., 1997).

Existen dudas acerca del mecanismo que dispara la luteolisis, un modelo sugiere que la oxitocina (OT) de la neurohipófisis que se libera de manera pulsátil sería la responsable, ya que al actuar sobre el útero induciría la liberación de bajos niveles PGF2a. La OT luteal tendría dos funciones principales, por un lado, estimularía una mayor liberación de PGF2a y, por el otro, los altos niveles sanguíneos provocarían un estado refractario del útero a la OT (Silvia et al., 1991).

Para que ocurra una luteolisis completa, el CL debe estar expuesto a aproximadamente 5 pulsos de secreción de PGF2a, por un periodo de 25 horas, la PGF2a se une a sus receptores en las células luteales e inicia una serie de eventos intracelulares que terminan la producción de P4 e inician la muerte celular. Los efectos luteolíticos de la PGF2a, se han atribuido a: disminución en el flujo sanguíneo, reducción en los receptores de LH, falta de unión de receptores de LH de adenilciclase, activación de la proteína quinasa C, afluencia de altos niveles de calcio y/o activación de una cascada citotóxica (Bazer et al., 1997).

La PGF2a no es el único metabolito que intervienen en la luteolisis, otros productos del ciclo de la lipo-oxigenasa del AA como los leucotrienos B4 y C4 cobran importancia en la regresión natural del CL (Hansel y Blair 1996; Blair et al., 1997).

El óxido nítrico (NO) una molécula polifuncional que interviene en diferentes eventos reproductivos en la hembra y en el macho, se ha considerado la señal fisiológica que dispara la cascada luteolítica, ya que es un potente vasodilatador con capacidad de regular el flujo sanguíneo y la producción de P4 (Shirasuna, 2010). El incremento agudo en el flujo sanguíneo periférico del CL sería la principal señal fisiológica que permite la acción del NO en respuesta a la PGF2a (Shirasuna et al., 2008). Se cree además que la Endotelina-1 un péptido vasoconstrictor, actuando en forma sinérgica con la PGf2a jugarían un papel importante en la regresión natural o inducida del CL (Shirasuna et al, 2006). En la regresión natural del CL también intervienen el sistema inmune mediante ciertas citoquinas, las cuales tendrían un marcado efecto sobre la función de las células luteales (Penny, 2000; Walusimbi y Pate, 2013).

Bibliografía

Acosta TJ. Studies of follicular vascularity associated with follicle selection and ovulation in cattle. *J Reprod Dev.* 2007; 53, 1:39-44.

Adams GP. Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *J Reprod Fertil* 1999;(Suppl54):17-32.

Adams GP, Jaiswal R, Singh J, Malhi P. Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology* 2008; 69: 72-80.

Anderson E, Albertini DF. Gap junctions between the oocyte and companion follicle cells in the mammalian ovary. *J Cell Biol* 1976; 71:680-686.

Arthur GH, Rahim ATA Temporal features of oestrus in Saudi Arabian imported cattle. 10th International Congress on Animal Reproduction and Artificial insemination, Urbana, Illinois, USA 3, 304 1984.

Badinga L, Collier RJ, Thatcher WW, Wilcox CJ. Effects of climatic and management factors on conception rate of dairy cattle in subtropical environmental. *J Dairy Sci* 1985; 68:78-85.

Badinga L, Thatcher WW, Wilcox CJ, Morris G, Entwistle K, Wolfenson D. Effect of season on follicular dynamics and plasma concentrations of estradiol 17-beta, progesterone and luteinizing hormone in lactating holstein cows. *Theriogenology* 1994; 42: 1263-1274.

Baruselli PS, Gimenes LU, de Sousa JN. Fisiologia reproductiva de fêmeas taurinas e zebuínas. *Rev Bras Reprod Anim, Belo Horizonte.* 2007; 31, 2:205-211.

Bazer FW, Spencer TE. Interferon tau: A novel pregnancy recognition signal. *Am J Reprod Immunol.* 1997;37, (6):412-420.

Blair RM, Saatman R, Liou SS, Fortune JE, Hansel W. Roles of leukotrienes in bovine corpus luteum regression: An in vivo microdialysis study. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1997; 216 (1) :72-80.

Bleach ECL, Glencross RG, Knight PG. Association between ovarian follicle development and pregnancy rates in dairy cows undergoing spontaneous oestrous cycles. *Reproduction* 2004;127: 621-9.

Brailoiu GC, Dun SL, Ohsawa M, Yin D, Yang J, Chang JK, Brailoiu E, Dun NJ. KiSS-1 expression and metastin-like immunoreactivity in the rat brain. *J Comp Neurol* 2001; 481:314- 329.

Brower PT, Schultz RM. Intercellular communication between granulosa cells and mouse oocytes: existence and possible nutritional role during oocyte growth. *Dev Biol* 1982;90:144–53.

Burns DS, Krassel FJ, Ireland JLH, Knight PG, Ireland JJ. Number of antral follicles during follicular waves in cattle: evidence for high variation among animals, very high repeatability in individuals, and an inverse association with serum follicle-stimulating hormone concentrations. *Biol Reprod* 2005;73:54–62.

Cardoso J, Díaz F, Hernández A. 1994. Estrous cycle characteristics and blood progesterone levels in holstein heifers under altitude and tropical conditions in Colombia. *Tropicultura*. 1994; 12:148.

Casida LE, Chapman AB, Rupel IW. Ovarian development in calves. *J Agric Res* 1935;50:953-960. Celik HA, Aydm I, Sendag S, Dinc DA. Number of follicular waves and their time effect on pregnancy rate in the cow. *Reprod Dom Anim* 2005;40:87–92.

Chanvallon A, Coyral-Castel S, Gatien J, Lamy JM, Ribaud D, Allain C, et al. Comparison of three devices for the automated detection of estrus in dairy cows. *Theriogenology* 2014; 82 734–741.

Chesnel F, Wigglesworth K, Eppig JJ. Acquisition of meiotic competence by denuded mouse oocytes: participation of somatic- cell product(s) and cAMP. *Dev Biol* 1994;161:285–295.

De Bond JA P, Smith JT. Kisspeptin and energy balance in reproduction. *Reproduction* 2014; 147 R53-R63.

De la Sota RL, Lucy MC, Staples CR, Thatcher WW. Effects of recombinant bovine somatotrophin (sometribove) on ovarian function in lactating and nonlactating dairy cows. *J Dairy Sci*. 1993; 76: 1002-1013.

Diskin MG, Sreenan JM. Expression and detection of oestrus in cattle. *Reprod Nutr Dev* 2000;40:481–491.

Dobson H, Smith RF. What is stress, and how does it affect reproduction?. *Anim Reprod Sci.* 2000; 60-61: 743-752.

Dobson H, Smith RF, Royal MD, Knight CH, Sheldon IM. The Highproducing Dairy Cow and its Reproductive Performance. *Reprod Dom Anim* 2007; 42 (Suppl.2), 17–23.

Eppig JJ. Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals. *Reproduction* 2001;122:829–838.

Espey LL. Ovulation as an inflammatory reaction– a hypothesis. *Biol Reprod* 1980; 22: 73–106.

Etim NN, Oguike MA. Environmental and Management Stressors: Implications for Reproductive and Productive Performances of Farm Animals in the Tropics. *J Agric Sustain.* 2014; 5, 2:153-170.

Fields MJ, Nidkum FM, Simmen RCM, Bui WC, Rollyson KO, Kowalski AA. Bovine luteal secretory proteins of the oestrus cycle and pregnancy. *Reprod Dom Anim.* 1996; 31:407-425.

Field SL, Dasgupta T, Cummings M, Orsi NM. Cytokines in Ovarian Folliculogenesis, Oocyte Maturation and Luteinisation. *Mol Reprod Dev* 2014; 81:284–314.

Findlay JK, Drummond AE, Fry RC. Intraovarian regulation of follicular development and ovulation. *Anim Reprod Sci.* 1996; 42:321-331.

Fischer-Tenhagen C, Wetterholm L, Tenhagen BA, Heuwieser W. Training dogs on a scent platform for oestrus detection in cows. *Appl Anim Behav Sci.* 2011; 131: 63–70.

Fortune JE, Rivera GM, Evans ACO, Turzillo AM. Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. *Biol Reprod* 2001;65:648– 654.

Galina CS, Arthur GH. Review of cattle reproduction in the tropics. Part 4. Oestrus cycles. *Anim Breed Abst.* 1990; 58 (8):697-7078.

Garverick HA, Smith MF. Female reproductive physiology and endocrinology of cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Prac.* 1993; 9 (2):223-24.

Gilad E, Meidan R, Berman A, Graber Y, Wolfenson D. Effect of heat stress on tonic and GnRH-induced gonadotrophin secretion in relation to concentration of oestradiol in plasma of cyclic cows. *J. Reprod Fertil* 1993;99(2): 315-321.

Gimenes LU, Sá Filho MF, Carvalho NAT, Torres-Júnior JRS, Souza AH, Madureira EH, Trinca LA, Sartorelli ES, Barros CM, Carvalho JBP, Mapletoft RJ, Baruselli PS. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. *Theriogenology* 2008; 69: 852-858.

OJ, Kastelic JP, Knopf L. Ovarian follicular dynamics in heifers during early pregnancy. *Biol Reprod.* 1989; 247-254.

Ginther OJ, Wiltbank MC, Fricke PM, Gibbons JR, Kot K. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol Reprod* 1996;55:1187-94.

Ginther OJ, Kot K, Kulick LJ, Martín S, Wiltbank C. Relationship between FSH and ovarian follicular waves during the last six months of pregnancy in cattle. *J Reprod Fertil.* 1996; 108 (2): 271-279.

Ginther OJ, Beg MA, Bergfelt DR, Donadeu FX, Kot K. Follicle selection in monovular species. *Biol Reprod* 2001;65:638-647.

Góngora A, Cardoso J. Mecanismos del estrés y efectos sobre la reproducción animal. *Rev Med Vet y Zoot* 2002; 49 (2):65-70.

Góngora A, Hernández A. Comportamiento sexual, duración del estro y del ciclo estral en novillas criollas Sanmartineras y Brahman en el Piedemonte Llanero Colombiano. *Livest Res Rur Dev.* 2006; 18:1.

Góngora A, Hernández A. La Reproducción de la vaca se afecta por las altas temperaturas ambientales. 2010; *Rev UDCA Act. & Div. Cient.* 13 (2): 141-151.

González-Padilla E, Niswender GD, Willbank JN. Puberty in beef heifers: Effect of injections of progesterone and estradiol-17b on serum LH, FSH and ovarian activity *J Anim Sci.* 1975; 40: 1105-1109.

Grazul-Bilska A, Reynolds LP, Redmer DA. Gap Junctions in the ovaries. *Biol Reprod.* 1997; 57:947-957.

Hansel W, Blair RM. The role of lipoxygenase products of arachidonic acid metabolism in bovine corpus luteu function. *Reprod Dom Anim.* 1996; 31: 427-429.

Hayashi M, McGee EA, Min G, Klein C, Rose UM, van Duin M, et al. Recombinant growth differentiation factor-9 (GDF-9) enhances growth and differentiation of cultured early ovarian follicles. *Endocrinology* 1999;140:1238–1244.

Henao D, Carrillo LM, Olivera-Angel M. Comportamiento durante el calor y dinámica folicular interestral en vacas BON (Blanco Orejinegro). *Rev Col Cienc Pec* 2004; 17:39-44.

Hernandez-Medrano JH, Campbell BK, Webb R. Nutritional Influences on Folliculogenesis *Reprod Dom Anim* 2012; 47 (Suppl. 4), 274–282.

Hernández A, Prieto E. Pubertad. En: Reproducción en la vaca. Fisiología y aplicaciones. Ed A Hernández. Editorial de la Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, 2008, pp 18-41.

Hopper HW, Silcox RW, Byerley D.J, Kiser, TE. Follicular development in prepubertal heifers. *Anim Reprod Sci.* 1993; 31: 7–12.

Irving-Rodgers HF, Catanzariti KD, Aspden WJ, D'occhio MJ, Rodgers RJ. Remodeling of Extracellular Matrix at Ovulation of the Bovine Ovarian Follicle. *Mol Reprod Dev* 2006; 73:1292-1302.

Jaiswal RS, Singh J, Adams GP. Developmental pattern of small antral follicles in the bovine ovary. *Biol Reprod* 2004; 71: 1244-1251.

Kerbrat S, Disenhaus C. A proposition for an updated behavioural characterisation of the oestrus period in dairy cows. *Appl Anim Behav Sci* 2004;87:223–238.

Lamothe-Zabaleta C, Fredriksson G, Madej. A. Reproductive performance of zebu cattle in Mexico. 2. Season a influence on the levels of progesterone, estradiol-17 β , cortisol and LH during the estrous cycle. *Theriogenology*, 1991; 36,6 :897-912.

Lucy MC, Savio JD, Badinga L, De la Sota RL, Thatcher WW. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J Anim Sci.* 1992; 70:3615-3626.

Mann GE. Corpus luteum size and plasma progesterone concentration in cows. *Anim Reprod Sci.* 2009; 115:296-299.

Mihm M, Diskin MG, Roche JF. Regulation of follicle wave growth in cattle. *Reprod Dom Anim* 1996; 31: 531–538.

Niswender GD, Juengel JL, McGuire WJ, Belfiore CJ, Wiltbank MC. Luteal function: The estrous cycle and early pregnancy. *Biol Reprod.* 1994;50: 239-247.

Makita M, Miyano T. Steroid hormones promote bovine oocyte growth and connection with granulosa cells. *Theriogenology* 2014; 82: 605–612.

Moberg GP. Influence of stress on reproduction: Measure of well'being in: *Animal Stress*, de. Gary. P. Moberg. American Physiological Society. Bethesda Maryland 1985.

Monniaux D, Huet C, Besnard N, Clément F, Bose M, Pisselet C, Monget P, Mariana JC.

Follicular growth and ovarian dynamic in mammals. *J Reprod Fertil Suppl* 1997; 51: 3-23.

Monniaux D, Clément F, Dalbiès-Tran R, Estienne A, Fabre S, Mansanet C and Monget P.

The Ovarian Reserve of Primordial Follicles and the Dynamic Reserve of Antral Growing Follicles: What is the Link? DOI:10.1095/biolreprod. 113.11707.

Noseir WMB. Ovarian follicular activity and hormonal profile during estrous cycle in cows: the development of 2 versus 3 waves. *Reprod Biol Endo* 2003;1:50.

Ojeda SR, Ma YJ, Rage F. The transforming growth factor alpha gene family is involved in the neuroendocrine control of mammalian puberty. *Mol Psych.* 1997; 2: 355-358.

Orihuela A. Some factors affecting the behavioural manifestation of oestrus in cattle: a review. *Appl Anim Behav Sci.* 2000; 70:1-16.

Oktem O, Oktay K. Stem cells: a perspective on oocytes. *Ann N Y Acad Sci* 2008b; 1127: 20–26.

- O'Shea JD, Rodgers RJ, D'Occhio MJ. Cellular composition of the cyclic corpus luteum of the cow. *J Reprod Fertil* 1989; 85: 483–487.
- Otsuka F, Yao Z, Lee T, Yamamoto S, Erickson GF, Shimasaki S. Bone morphogenetic protein-15. Identification of target cells and biological functions. *J Biol Chem* 2000;275:39523–39528.
- Penny LA. Monocyte chemoattractant protein 1 in luteolysis. *Rev Reprod* 2000;5:63-66.
- Pinheiro OL, Barros CM, Figueredo RA, Valle ER, Encarnação RO, Padovani CR. Estrous behaviour and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F₂ α or norgestomet and estradiol valerate. *Theriogenology*1998; 49:667-681.
- Pleasse D, Warnick AC, Koger M. Reproductive behaviour of *Bos indicus* females in a subtropical environment. IV Length of estrus cycle, duration of estrus, time of ovulation, fertilization and embryo survival in grade Brahman heifers. *J Anim Sci.* 1970; 30, 1: 63-72.
- Purwantara B, Assey RJ, Schmidt M, Hytel P, Greve T. Dynamics of the first follicular wave in cattle following cloprostenol-induced luteolysis. *Int Cong Anim Reprod and AI* 260-262 1992.
- Rajakoski R. The ovarian follicular system in sexually mature heifers with special reference to seasonal cyclical, and left-right variations. *Acta Endocrinol Suppl (Copenh)* 1960;52:1–68.
- Rico C, Fabre S, Médigue C, di Clemente N, Clément F, Bontoux M, Touzé JL, Dupont M, Briant E, Rémy B, Beckers JF, Monniaux D. Anti-mullerian hormone is an endocrine marker of ovarian gonadotropin-responsive follicles and can help to predict superovulatory responses in the cow. *Biol Reprod* 2009; 80: 50-59.
- Richards JS, Liu Z & Shimada M. Immune-like mechanisms in ovulation. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 2008;19:191–196.
- Rivier C, Riviest S. Effect of stress on the activity of the hypothalamic pituitary-gonal axis: Peripheral and central mechanism. *Biol Reprod* 1991; 45: 523-532.

Roche JF, Crowe MA, Boland MP. Postpartum anoestrus in dairy and beef cows Anim Reprod. Sci. 1992; 28: 371-378.

Roelofs JB, van Eerdenburg FJCM, Soede NM, Kemp B. Various behavioral signs of estrous and their relationship with time of ovulation in dairy cattle. Theriogenology 2005;63:1366-77.

Roelofs J, López-Gatius F, Hunter RHF, van Eerdenburg FJCM, Hanzen C. When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects. Theriogenology 2010;74:327-44.

Rüsse I, Sinowatz F, 1991: Gametogenese & Harn- und Geschlechtsorgane. In: Rüsse I, Sinowatz F. (eds), Lehrbuch der Embryologie der Haustiere. Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg, pp. 51, 70 & 314.

Savio JD, Thatcher WW, Badinga L, de la Sota R.L. Turnover of dominant ovarian follicles is regulated by progestins and dynamics of LH secretion in cattle. J. Reprod. Fertil. 1990; 6: 23 (Abstr. Ser).

Shirasuna K, Watanabe S, Oki N, Wijayagunawardane MP, Matsui M, Ohtani M, et al. A cooperative action of endothelin-1 with prostaglandin F2a on luteal function in the cow. Dom Anim Endocrinol 2006; 31: 186- 196.

Shirasuna K, Watanabe S, Asahi T, Wijayagunawardane MPB, Sasahara K, Jiang C et al. Prostaglandin F2a increases endothelial nitric oxide synthase in the periphery of the bovine corpus luteum: the possible regulation of blood flow at an early stage of luteolysis. Reproduction 2008; 135: 527-539

Shirasuna K. Nitric Oxide and Luteal Blood Flow in the Luteolytic Cascade in the Cow. J Reprod Dev 2010; 56 1:9-14.

Silva JRV, Figueiredo JR, van den Hurk R Involvement of growth hormone (GH) and insulin-like growth factor (IGF) system in ovarian folliculogenesis. Theriogenology 2009; 71: 1193-1208.

Silvia WJ, Lewis GS, McCracken JA, Thatcher WW, Wilson J.R. Hormonal regulation of uterine secretion of prostaglandin F2 during luteolysis in ruminants. Biol Reprod. 1991; 45: 655-663.

Sheldon MI, Cronin JG, Healey GD, Gable C, Heuwieser W, Streyll D, Bromfield JJ, Miyamoto A, Fergani C, Dobson H. Innate immunity and inflammation of the bovine female reproductive tract in health and disease. *Reproduction* 2014; 148 R41–R51.

Shupnik MA. Gonadotropin gene modulation by steroids and gonadotropin-releasing hormone. *Biol Reprod.* 1996; 54: 279-286.

Skarzynski DJ, Piotrowska-Tomala KK, Lukasik K, Galvão A, Farberov S, Zalman Y, Meidan R. Growth and Regression in Bovine Corpora Lutea: Regulation by Local Survival and Death Pathways. *Reprod Dom Anim* 2013; 48 (Suppl. 1), 25–37.

Spencer TE, Burghardt RC, Johnson GA, Bazer FW Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Anim Reprod Sci.* 2004; 82–83: 537–550.

Talukder S, Kerrisk KL , Ingenhoff L, Thomson PC, Garcia SC , Celi P. Infrared technology for estrus detection and as a predictor of time of ovulation in dairy cows in a pasture-based system. *Theriogenology* 2014; 81: 925–935.

Thatcher WW. Enhancement of fertility in heat-stressed cows. In: *Proceeding of the International Conference on livestock in the tropics.* Institute of Food and Agricultural Sciences Universtiy of Florida. Gainesville, Florida 1996.

Tsafiriri A, Dekel N. (1994) Molecular mechanisms in ovulation. In Findlay, J.K. (ed.), *Molecular Biology of the Female Reproductive System* Academic Press, San Diego, USA, pp. 207–258.

Visser JA, de Jong FH, Joop SE Laven JSE, Themmen APN. Anti-Mullerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction* 2006; 131: 1–9.

Vitt UA, Hayashi M, Klein C, Hsueh AJ. Growth differentiation factor-9 stimulates proliferation but suppresses the follicle-stimulating hormone-induced differentiation of cultured granulosa cells from small antral and preovulatory rat follicles. *Biol Reprod* 2000;62:370–3.

Webb R, Woad KJ, Armstrong DG. Corpus luteum (CL) function: local control mechanisms. *Dom anim endocrinol* 2002; 23:277-285.

Witbank MC, Lopez H, Sartori R, Sangsritavong S, Gümen A. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology*. 2006; 65:17-29.

Wolfenson D, Thatcher WW, Badinga L, Savio JD, Meidan R, Lew BJ et al. Effect of stress on follicular development during the estrus cycle in lactating dairy cattle. *Biol Reprod*. 1995; 52: 1106-1113.

Yeo, SH. Neuronal circuits in the hypothalamus controlling gonadotrophin-releasing hormone release: The neuroanatomical projections of kisspeptin neurons. *Exp Physiol* 2013; 98, 11:1544-1549.

Yoshimura Y. The ovarian rennin - angiotensin system in reproductive physiology. *Frontiers in neuroendocrinology*. 1997; 18: 247-291.

Yoshioka H, Michie Ito M, Tanimoto Y. Effectiveness of a Real-time Radiotelemetric Pedometer for Estrus Detection and Insemination in Japanese Black Cows. *J Reprod Dev* 2010; 56: 351–355.

Yoshioka FS, Nishimura I R, Okuda K. Hypoxia Promotes Progesterone Synthesis During Luteinization in Bovine Granulosa Cells. *J Reprod Dev* 2014; 60: 194–201.

Zollers WG Jr, Garverick HA, Youngquist RS, Ottobre JS, Silcox RW, Copelin JP, et al. In vitro secretion of prostaglandins from endometrium of postpartum beef cows expect to have short or normal luteal phases. *Biol Reprod*. 1991; 44: 522-526.