

MECANISMOS Y MEDIADORES QUÍMICOS INVOLUCRADOS EN LA OVULACIÓN EN ANIMALES DOMÉSTICOS

KIENER, M.¹

RESUMEN

La ovulación comprende eventos bioquímicos, morfológicos y fisiológicos que producen la liberación del ovocito II del folículo preovulatorio, donde se involucran hormonas hipofisarias, como la LH desencadenantes del proceso y hormonas esteroides como los estrógenos. Este proceso requiere de mediadores locales de las hormonas hipofisarias, como las citocinas que regulan la proliferación, diferenciación y apoptosis. Otros mediadores químicos de importancia son los prostanoides y los sistemas enzimáticos: el del activador del plasminógeno/plasmina y el de las metaloproteasas, éstos trabajan en forma coordinada y regulan la ruptura folicular. Los mediadores y efectores químicos ováricos, involucrados en la ovulación y su regulación se modifican en cada una de las especies domesticas y son objeto de estudio para el conocimiento básico de la biología de la ovulación.

Palabras claves: ovulación, hormona luteinizante, citocinas, prostaglandinas, metaloproteasas.

SUMMARY

Ovulation can be defined as the biochemical, morphological and physiological events which produce the release of ovocyte II from the preovulatory follicle. These events comprise hormonal changes, in which the pituitary hormones, as luteinizing hormone (LH), steroideal hormone and mainly estrogens are involved. Ovulation requires local mediators, as cytokines which regulate the functions of proliferation, differentiation and apoptosis. Other local mediators, prostanoids and enzymatic systems are mainly involved in the process. Plasmine/plasminogen and metalloproteinase; these systems work in a coordinate form and regulate the follicular breakdown. Mediators and chemical effectors of the ovarian tissue involved and its regulation are modified in each of the species and it is the subject of study to understand the base of ovulation biology.

Key words: ovulation, luteinizing hormone, cytokin, prostaglandin, matrix metalloproteinase.

1.- Cátedra de Fisiología. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral. Kreder 2805. Tel.: (03496) 420639, interno 127. (3080) Esperanza, provincia de Santa Fe. Email: mkiener@fcv.unl.edu.ar
Manuscrito recibido el 4 de septiembre de 2009 y aceptado para su publicación el 11 de mayo de 2010.

INTRODUCCIÓN

Se define como ovulación al conjunto de eventos bioquímicos, morfológicos y fisiológicos que desencadenan la liberación del ovocito II a partir del folículo preovulatorio presente en el estroma ovárico. Los eventos necesarios para que se produzca la ovulación abarcan cambios hormonales, donde las hormonas involucradas son hormonas hipofisarias como la hormona luteinizante (LH) y hormonas esteroideas principalmente los estrógenos. La LH inicia la cascada de eventos del proceso ovulatorio, en los folículos maduros, que culmina con la ruptura del folículo y la liberación de un ovocito maduro susceptible de ser fecundado. El término ruptura folicular se aplica a los cambios asociados con la formación del estigma, la degradación y fisura de la pared folicular que permiten la liberación del ovocito. Para que se lleve a cabo la ruptura de la pared folicular, respuestas vasculares y celulares mediadas por citocinas y otros mediadores locales deben estimularse a partir de las variaciones hormonales (Aznar *et al.*, 2007).

Los folículos terciarios o folículos antrales se caracterizan histológicamente por la presencia de la cavidad antral y por estar rodeados de varias capas 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. 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 miofi-broblastos diferenciados de los fibroblastos del estroma. A nivel molecular se caracterizan por una mayor expresión de receptores para hormona folículo estimulante (FSH) en las células de la granulosa y para la LH en las células de

la teca. Los folículos dominantes expresan en las células de la granulosa además de los receptores para FSH, receptores para LH. (Gigli *et al.*, 2006).

Las etapas finales del desarrollo folicular se encuentran reguladas por factores de diversa naturaleza y origen los cuales, a través de la participación de múltiples sistemas de señalización autocrina, paracrina y endocrina, que involucran a todas las estirpes celulares que se encuentran en el folículo, son capaces de llevarlo a través de las etapas de maduración. El folículo continúa su crecimiento después de ser seleccionado como dominante y entra en el estado preovulatorio, conocido también como folículo de De Graaf que tiene la capacidad de responder al estímulo de la LH. Las células de la granulosa aumentan y adquieren inclusiones lipídicas, mientras que la teca se vuelve vacuolada y altamente vascularizada. A medida que llega a su madurez, el folículo, aumenta la secreción de estrógenos, llegando a producir un pico, que induce la conducta estral. Además, induce la aparición del pico de LH a través de mecanismos de retroalimentación positiva en el hipotálamo, estimulando la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y LH, lo cual es seguido por la ovulación entre 18-32 horas. Este tiempo, que separa el pico de LH de la ovulación, es un parámetro que presenta poca variación entre las especies domésticas (Velásquez Domínguez & Mendieta Márquez, 2002).

HORMONAS HIPOFISARIAS Y MEDIADORES QUÍMICOS

La LH es una hormona glicoproteica producida en las células gonadotropas del lóbulo anterior de la hipófisis. Su síntesis y secreción por las células gonadotropas está regulada por la acción de la GnRH hipotalámica, que llega a ellas vía sistema porta

hipotálamo-hipofisario (Remohí Gutiérrez & Valencia Llerena, 2003).

La función de la LH es reiniciar la meiosis en el folículo preovulatorio, desencadenar la ovulación y controlar el desarrollo y mantenimiento del cuerpo lúteo (CL). Ejerce su acción uniéndose a receptores de membrana en las células de la granulosa y teca del folículo preovulatorio produciendo un aumento del adenilato mono fosfato cíclico (AMPC) vía adenil ciclasa (de Gier *et al.*, 2006).

La hormona folículo estimulante (FSH) junto con los estrógenos estimulan la formación de la cavidad antral y la expresión de receptores para LH en las células de la granulosa del folículo preovulatorio (Hsieh *et al.*, 2007). En el mecanismo molecular de la ovulación, esta involucrado el pico preovulatorio de LH que provoca cambios en la estructura del folículo, en la actividad proliferativa y en la esteroidogénesis de las células de la granulosa. Estos cambios ocurren entre el pico de LH y la ovulación y se asocian con aumento en la cantidad de uniones estrechas, expresión y síntesis de receptores para factores de crecimiento y abundante actividad mitótica en las células de la granulosa (Shao, 2004).

Los cambios estructurales más importantes que dan paso a la ovulación, ocurren a nivel del tejido conectivo de la túnica albugínea y de la teca externa. Cuando se aproxima la ovulación, se observa la disolución de la matriz extracelular incluyendo a las fibras de colágena de la teca. Estos cambios son acompañados de un aumento en la permeabilidad de los vasos sanguíneos, lo que provoca la salida de células sanguíneas y edema del tejido folicular. Por otra parte, las uniones comunicantes entre las células de la granulosa y el ovocito se pierden previos a la ovulación (Curry & Smith, 2006).

La ovulación es un complejo proceso

que además de gonadotropinas y esteroides requiere mediadores locales como las citocinas, que también participan en la respuesta inflamatoria. Estas actúan como mediadores locales de las hormonas hipofisarias (Ianchi, *et al.*, 2007).

Las citocinas comprenden una variedad de péptidos y glicoproteínas que regulan funciones de proliferación, diferenciación y apoptosis. Son producidas por varios tejidos y células como las del endometrio, ovario y células inmunocompetentes (Richards *et al.*, 2008). La citocina más estudiada durante la ovulación es la interleucina-1 (IL-1), la cual está integrada por la IL-1 α y la IL-1 β , ambas encontradas en el ovario y en el líquido folicular (Gerard *et al.*, 2004).

ESTRUCTURA HISTOLÓGICA DEL FOLÍCULO

En la región anatómica del ovario, donde se forma el estigma y ocurre la ruptura folicular, se distinguen las siguientes capas:

1) El epitelio ovárico, fuente de enzimas proteolíticas requeridas para degradar la pared folicular y permitir su ruptura (Cajander, 1976).

2) La túnica albugínea.

3) La teca externa.

4) La teca interna sitio principal de la síntesis de esteroides al final de la maduración folicular (Schaar, 1976)

5) El estrato de la granulosa con un grosor de cinco o siete capas celulares, excepto en el sitio donde se sostiene al ovocito, el Cumulus oophorus.

Una característica de la granulosa es la formación de redes comunicantes (Merck *et al.*, 1973) que unen a las células entre sí, y con el ovocito en un sincitio funcional.

CAMBIOS VASCULARES

A los pocos minutos del estímulo hormonal ovulatorio, se presentan cambios en

la microvasculatura folicular que provocan aumento en el flujo sanguíneo, acompañado de hiperemia, vasodilatación, edema y extravasación de componentes plasmáticos. Estos cambios son regulados en su inicio por la histamina y, posteriormente, por la bradicinina y las prostaglandinas.

La histamina en tejido ovárico se almacena preferentemente en las células cebadas, en los basófilos y en las plaquetas localizadas en el hilio ovárico.

La IL-1 β estimula la producción de IL-4, necesaria en la transformación de los linfocitos B a células plasmáticas productoras de la inmunoglobulina E (Ig-E). Esta es una de las señales que inician la degranulación de las células cebadas, dando como resultado la liberación de sustancias vasoactivas, histamina, bradicinina que a su vez favorecen los cambios en la permeabilidad (Grazul-Bilska *et al.*, 2006). Otro efecto biológico de la IL-1 β asociado con los cambios vasculares, es el de inducir la síntesis del óxido nítrico (NO) al estimular la expresión de la enzima que lo sintetiza, la óxido nítrico sintasa (NOS). El ovario cuenta con dos isoformas de la NOS, la constitutiva y la inducible; siendo esta última estimulada por citocinas (Grazul-Bilska *et al.*, 2006).

La NOS se localiza en las células de la granulosa. Las funciones del NO en el ovario son muy variadas, y van desde controlar la relajación de los vasos y el volumen sanguíneo circulante hasta la exudación del plasma que acompaña a la ruptura del folículo. El NO ejerce su acción vasodilatadora al unirse al hierro del grupo hemo de la guanilil ciclasa, la activa y como consecuencia se genera guanidil mono fosfato cíclico (GMPc). Este a su vez estimula a las proteínas cinasas dependientes de NO, dando como resultado la relajación del músculo liso de los vasos sanguíneos. El NO también contribuye a la liberación de prostaglandina E2 (PGE2) y

prostaciclina al activar a la ciclooxigenasa que regulan su vía de síntesis por medio de un mecanismo similar al descrito para la guanilil ciclasa, ya que el sitio activo de las ciclooxigenasas también contiene un grupo hemo (Duarte Mote *et al.*, 2008).

Las prostaglandinas del tipo E2 y F2 α se consideran mediadores de la ovulación, debido a que en las primeras horas del proceso sus niveles aumentan, alcanzando el nivel más alto en el momento de la ruptura del folículo, la concentración de la PGE2 es dos veces mayor que la de prostaglandina F2 α (PGF2 α). La función de estos prostanoides en la ovulación, es la promover eventos degradativos en el folículo (Kam & See, 2000; Bridges & Fortune, 2007). Para la síntesis de prostanoides es necesaria la expresión y actividad de enzimas, como la fosfolipasa A2 y la prostaglandina endoperoxido sintasa o ciclooxigenasa; ya que la velocidad de síntesis de los prostanoides está determinada por la presencia de estas enzimas. La fosfolipasa A2 cataliza la liberación del ácido araquidónico de los fosfolípidos de la membrana (Lister & Van Der Kraak, 2008). La mayor concentración y actividad enzimática se encuentran en las células de la granulosa, donde la IL-1 β actúa como modulador de la fosfolipasa en el ovario (Jabbour *et al.*, 2006). Existen dos isoformas de la ciclooxigenasa: la 1 (Cox 1) y la 2 (Cox 2). La primera se expresa constitutivamente y es la responsable de funciones fisiológicas. La Cox-2 tiene bajos niveles en condiciones basales, pero es inducible por factores de crecimiento, como el factor de crecimiento análogo a insulina (IGF), promotores de tumores, como el factor de necrosis tumoral (TNF), gonadotropinas e IL-1 β . Se expresa en células de la granulosa (Lizarraga Madrigan *et al.*, 2002) donde los prostanoides sintetizados, actúan aumentando el flujo sanguíneo y la permeabilidad vascular.

PROTEÓLISIS Y RUPTURA FOLICULAR

La fragmentación y disociación de la matriz del tejido conectivo, y de las fibras de colágena en la túnica albugínea y la teca externa previas a la ruptura folicular, se han correlacionado con un aumento en la actividad de las proteasas presentes en los tejidos y en el líquido folicular (Peña *et al.*, 2007). Dos sistemas enzimáticos son los principalmente implicados en el proceso: el del activador del plasminógeno/plasmina y el de las metaloproteasas. Los dos sistemas funcionan en forma coordinada y regulan la ruptura folicular. El sistema activador del plasminógeno/plasmina (AP) esta conformado por enzimas del grupo de las serina-proteasas, y está integrado por dos activadores y dos inhibidores: el activador de tipo tisular (AP-t), el activador tipo urocina (AP-u), el inhibidor tipo 1 (API-1) y el inhibidor tipo 2 (API-2). De los dos activadores, sólo el tisular eleva su concentración antes de la ovulación, al ser estimulado por las gonadotropinas, especialmente la FSH; de aquí se deduce que el tipo urocina no participa en la ruptura folicular (Peña *et al.*, 2007). El mecanismo molecular para el aumento preovulatorio del sistema AP se inicia después del pulso gonadotrópico, con la síntesis del activador tipo tisular y la supresión de sus inhibidores en el compartimiento de la granulosa, esto mantiene alta la concentración y la actividad del AP, que a su vez activa a la plasmina. La plasmina actúa sobre las procolagenasas para formar colagenasas activas en el tejido conectivo, que alteran la integridad estructural de la pared del folículo y facilitan su ruptura durante la ovulación. (Curry & Smith, 2006). Las colagenasas requeridas son principalmente metaloproteasas, que autorregulan su actividad. Similar al sistema AP, las metaloproteasas de matriz extracelular (MMP) y sus

inhibidores (TIMPs) tienen participación en la degradación de la matriz extracelular del ápice de los folículos maduros, previo a la ruptura (Curry & Smith, 2006).

Las metaloproteasas forman una familia de endopeptidasas dependientes de calcio y zinc, secretadas y sintetizadas por células del tejido conectivo y algunas células hematopoyéticas (Barbolina & Slack, 2008). En la ovulación inducida por gonadotropinas se han evaluado diferentes ARNm de las MMPs y sus TIMPs incluyendo: la gelatinosa A o MMP2, la estromelina o MM3, el MT1-MMP, la MMP19 y los TIMP-1, 2 y 3, todos se expresan de forma constante y en diferentes compartimientos, los niveles máximos al momento de la ovulación corresponden a la MMP19, y el TIMP-1 (Kliem *et al.*, 2007).

Por su parte, los niveles de la gelatinosa A (MMP-2) y su activador (MTI-MMP) son bajos en el ovario de ratas inmaduras; sus ARNm se localizan en la teca intersticial y en la teca/granulosa respectivamente (Schaffer-Somi *et al.*, 2005).

Después del estímulo hormonal, la expresión de MTI-MMP disminuye marcadamente en la granulosa, pero permanece y aumenta junto con la MMP2 en la teca intersticial. La expresión y distribución tisular de la MTI-MMP sustenta la idea de que tiene una función dual en el ovario. Al inicio degrada la matriz de los folículos en desarrollo y más tarde, justo antes de la ovulación, activa a la proMMP2 en células de la teca facilitando la ruptura del folículo ovulatorio (Berisha *et al.*, 2008).

La MMP19 es un miembro único de un subgrupo de las MMPs por tener características estructurales diferentes. Se conoce poco acerca de la especificidad a su sustrato, los informes preliminares indican que tiene actividad semejante a la estromelina-MM3 (Pendas *et al.*, 2004). La estromelina es

otra de las MMPs presentes en el folículo; durante la ovulación se localiza en las células de la granulosa de los folículos pequeños no maduros, por ello se especula que no participa en la ruptura.

Una vez que inicia la proteólisis, es regulada por diferentes inhibidores bien caracterizados de origen sérico y tisular. El ovario cuenta con tres inhibidores de origen sérico (α 1-macroglobulina, α 2-macroglobulina y el inhibidor α 1-3). La macroglobulina α 2 se asocia con la remodelación del ovario y la α 1-3 aumenta su concentración en la ovulación. Los inhibidores tisulares son importantes como reguladores de la actividad de enzimas que degradan la matriz extracelular.

Los TIMPs son una familia de tres proteínas (TIMP-1, 2 y 3), que regulan la actividad de las metaloproteasas. De las tres la más importante durante la ovulación es el TIMP-1, por tener el ARNm más abundante en las células de la granulosa y ser el responsable de regular la expresión de los dos restantes. La IL-1 β modula la expresión de los TIMPs en la granulosa (Callaiud *et al.*, 2005). El mecanismo molecular para activar o inhibir a las MMP y los TIMP es a través de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, como el NO y el anión superóxido (O₂⁻), que forman parte del sistema de señalamiento que regula los efectos biológicos del sistema de la IL-1 (Yang *et al.*, 2005). En cultivos celulares se ha observado que la producción simultánea de NO y O₂⁻ conduce a la formación de un oxidante potente como es el peroxinitrito y/o el ácido hiponitroso (ONOO⁻ y ONOOH), provocando la inhibición de la actividad de la gelatinosa A (Ogiwara *et al.*, 2005).

DESPRENDIMIENTO DEL CUMULUS OOPHORUS

Estimuladas por FSH, las células del cúmulo producen glicosaminoglicanos como

el ácido hialurónico, luego se dispersan y el OMI (factor inhibidor de la meiosis) deja de actuar sobre el ovocito, que reanuda la meiosis que se completará con la penetración del espermatozoide al extruirse el segundo corpúsculo polar, produciendo la liberación del ovocito y su corona radiata de la pared del folículo; el ovocito flota libremente en el líquido folicular antes de la ovulación (Kimura *et al.*, 2007). La IL-1 regula este proceso, estimula la síntesis de proteoglicanos, de ácido hialurónico y de heparán sulfato en células ováricas en cultivo; y la síntesis de estos compuestos es regulada por el ovocito, que expresa marcadamente el receptor para IL-1. Por lo tanto, es posible que esta citokina afecte la síntesis requerida de glicosaminoglicanos que conduce al desprendimiento del Cumulus y que ello sea mediado por el ovocito (Mortiriati & Gerard, 2003).

HORMONAS ESTEROIDEAS

Los folículos maduros de la rata secretan grandes cantidades de estrógenos y de algunos andrógenos, cuya producción aumenta durante las primeras horas, al inicio del proceso que conduce a la ovulación. A medida que avanza el proceso, la síntesis de progesterona se incrementa de manera significativa y los niveles de estrógenos disminuyen casi totalmente, este aumento preovulatorio de la progesterona en la rata, se asocia con el incremento en la tasa de ovulación in vivo. La función de la progesterona en los folículos preovulatorios, puede ser de importancia en el progreso de la ruptura de la pared folicular al regular los niveles de calicreína y el activador del plasmi-nógeno (Cao *et al.*, 2006). El aumento de progesterona en las últimas horas de la fase folicular contribuye a la relajación de la pared del folículo y, como consecuencia a un aumento de su volumen y al acercamiento a la superficie

del ovario. Este movimiento hacia el exterior aleja al folículo de las células perifoliculares productoras de factores inhibidores del plasminógeno. Como respuesta al pico de FSH y LH se potencian los factores activadores del plasminógeno; se forma plasmina y esta sustancia da lugar a la formación de colagenasas activas. La IL-1 α y 1 β amplifican la producción de progesterona y testosterona inducida por gonadotropinas en los folículos preovulatorios, cuya síntesis se realiza en el compartimiento de la teca y es dependiente del estado de desarrollo folicular (Bornstein *et al.*, 2004). Son varios los mecanismos a través de los cuales la IL-1 ejerce su acción para aumentar la producción de progesterona en los folículos preovulatorios. Uno de ellos es que la citokina aumenta los receptores para LH en las células de la teca, con el subsecuente aumento de progesterona. Otro mecanismo incluye a la síntesis de la PGE2 que conduce a la formación de AMPc requerido para estimular la producción de progesterona

(Markosyan & Duffy, 2009). La IL-1 actúa a través del NO, el que además de tener un efecto vascular primario, estimula o inhibe la secreción de esteroides (Brann *et al.*, 2002). Los acontecimientos preovulatorios se resumen en la Fig. 1.

CONCLUSIONES

De la información vertida se evidencia la importancia de los mediadores y efectores químicos propios del tejido ovárico implicados en los diferentes acontecimientos necesarios para el desencadenamiento de la ovulación y su regulación por parte de las diferentes hormonas, tanto hipofisarias como gonadales. Como se modifican estos mecanismos en cada una de las especies de interés veterinario es objetivo de estudio a partir de los conocimientos básicos de la biología de la ovulación.

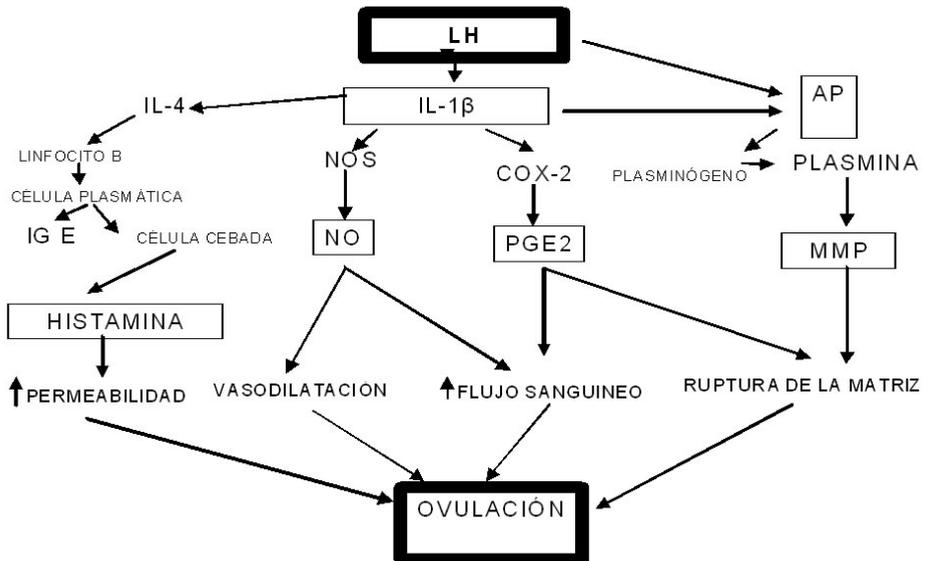


Fig. 1: Resumen general de los acontecimientos preovulatorios

BIBLIOGRAFÍA

- AZNAR, F.; BOTIJA, J. & LORENTE, J.** 2007 Regulación neurohormonal de la función reproductora. El eje diencéfalo-hipófisis-gónadas. En: Fundamentos de Obstetricia. Madrid. SEGO: 79-84.
- BARBOLINA, M. V. & STACK, M. S.** 2008 Membrane type 1-matrix metalloproteinase: substrate diversity in pericellular proteolysis. *Semin Cell Dev Biol.* Feb; 19 (1):24-33.
- BERISHA, B.; STEFFL, M.; WELTER, H.; KLIEM, H.; MEYER, H. H.; SCHAMS, D. & AMSELGRUBER, W.** 2008 Effect of the luteinising hormone surge on regulation of vascular endothelial growth factor and extracellular matrix-degrading proteinases and their inhibitors in bovine follicles. *Reprod Fertil Dev.*; 20 (2):258-68.
- BORNSTEIN, S. R.; RUTKOWSKI, H. & VREZAS, I.** 2004. Cytokines and steroidogenesis. *Mol. Cell Endocrinol.* 27; 215 (1-2):135-41.
- BRANN, D.; GREENBAUM, L.; MAHESH, V. & XIAOXING GAO.** 2002 Activation of the kinin system in the ovary during ovulation: Role of endogenous progesterone *BMC Physiology*, 2:7
- BRIDGES, P. J. & FORTUNE, J. E.** 2007. Regulation, action and transport of prostaglandins during the periovulatory period in cattle. *Mol Cell Endocrinol.* 15; 263 (1-2):1-9.
- CAILLAUD, M.; DUCHAMP, G. & GÉRARD, N.** 2005 In vivo effect of interleukin-1beta and interleukin-1RA on oocyte cytoplasmic maturation, ovulation, and early embryonic *Reproductive Biology and Endocrinology*, 3:26
- CAJANDER, S.** 1976. Structural alterations of rabbit ovarian follicles after mating with special reference to the overlying surface epithelium. *Cell Tissue Res*; 173:437-449.
- CAO, M.; BURATINI, J. R.; LUSSIER, J. G.; CARRIERE, P. D. & PRICE, C. A.** 2006. Expression of protease nexin-1 and plasminogen activators during follicular growth and the periovulatory period in cattle *Reproduction*; 131 (1):125-37.
- CURRY, T. & SMITH, M.** 2006 Impact of extracellular matrix remodeling on ovulation and the folliculo-luteal transition. *Semin Reprod Med.*; 24 (4):228-41.
- DE GIER, J.; KOOISTRA, H. S.; DJAJADININGRAT-LAANEN, S. C.; DIELEMAN, S. J. & OKKENS, A. C.** 2006. Differential regulation of the secretion of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone around the time of ovulation in the bitch. *Theriogenology.* Oct. 66 (6-7):1419-22.
- DUARTE MOTE, J.; ESPINOSA LÓPEZ, R.; DÍAZ MEZA, S.; SÁNCHEZ ROJAS, G.; LEE ENG CASTRO, V.; MIJANGOS CHÁVEZ, J. & BARRAGÁN GARFIAS, J.** 2008 Óxido nítrico: metabolismo e implicaciones clínicas. *Medicina Interna de México Volumen 24, núm. 6, noviembre-diciembre*
- GÉRARD, N.; CAILLAUD, M.; MARTORIATI, A.; GOUDET, G. & LALMANACH, A.** 2004 The interleukin-1 system and female reproduction *Journal of Endocrinology* 180, 203-212
- GIGLI, I.; RUSSO, A. & AGÜERO, A.** 2006 Consideraciones sobre la dinámica ovárica en equino, bovino y camélidos sudamericanos. *Invet*, 8(1): 183-204
- GRAZUL-BILSKA, A. T.; NAVANUKRAW, C.; JOHNSON, M. L.; ARNOLD, D. A.; REYNOLDS, L. P. & REDMER, D. A.** 2006. Expression of endothelial nitric oxide synthase in the ovine ovary throughout the estrous cycle. *Reproduction.* 132 (4):579-87.
- HSIEH, M.; LEE, D.; PANIGONE, S.; HORNER, K.; CHEN, R.; THEOLOGIS, A.; LEE, D. C.; THREADGILL, D. &**

- CONTI, M.** 2007 Luteinizing Hormone-Dependent Activation of the Epidermal Growth Factor Network Is Essential for Ovulation. *Molecular and cellular biology*, p. 1914-1924 Vol. 27, No. 5
- IANCHIÙ, R. I.; VOZNESENS'KA, T. I. U. & SHEPEL, O. A.** 2007. Cytokines and their role in reproductive system. *Fiziol Zh.* 53 (3): 82-90
- JABBOUR, H. N.; SALES, K.J.; SMITH, O.P.; BATTERSBY, S. & BODDY, S. C.** 2006. Prostaglandin receptors are mediators of vascular function in endometrial pathologies. *Mol Cell Endocrinol.* Jun 27;252 (1-2):191-200
- KAM, P. & SEE, V.** 2000 Cyclooxygenase isoenzymes: physiological and pharmacological role. *Anaesthesia* 55 (5)442-445
- KIMURA, N.; HOSHINO, Y.; TOTSUKAWA, K. & SATO, E.** 2007. Cellular and molecular events during oocyte maturation in mammals: molecules of cumulus-oocyte complex matrix and signalling pathways regulating meiotic progression. *Soc Reprod Fertil Suppl.*; 63:327-42.
- KLIEM, H.; WELTER, H.; KRAETZL, W. D.; STEFFL, M.; MEYER, H. H.; SCHAMS, D. & BERISHA, B.** 2007 Expression and localization of extracellular matrix degrading proteases and their inhibitors during the oestrous cycle and after induced luteolysis in the bovine corpus luteum. *Reproduction.* ;134 (3): 535-47.
- LISTER, A. L. & VAN DER KRAAK, G.** 2008 An investigation into the role of prostaglandins in zebrafish oocyte maturation and ovulation *Gen Comp Endocrinol.*159(1): 46-57.
- LIZARRAGA MADRIGAL, I.; SUMANO LOPEZ, H. & CASTILLO ALCALA, F.** 2002 Inhibidores selectivos de la ciclo oxigenasa-2: Usos potenciales en perros. *Vet Mex.* 33(3).
- MARKOSYAN, N. & DUFFY, D. M.** 2009 Prostaglandin E2 acts via multiple receptors to regulate plasminogen-dependent proteolysis in the primate periovulatory follicle. *Endocrinology.*150 (1):435-44.
- MARTORIATI, A. & GERARD, N.** 2003. Interleukin-1 (IL-1) system gene expression in granulosa cells: kinetics during terminal preovulatory follicle maturation in the mare development in the mare *Reproductive Biology and Endocrinology*, 3:26
- MERK, F.B.; ALBRIGHT, J. T. & BOTTICEL-FI, C. R.** 1973. The fine structure of granulosa cell nexuses in rat ovarian follicles. *Anat Rec*; 175:107-126.
- OGIWARA, K.; TAKANO, N.; SHINOHARA, M.; MURAKAMI, M. & TAKAHASHI, T.** 2005. Gelatinase A and membrane-type matrix metalloproteinases 1 and 2 are responsible for follicle rupture during ovulation in the medaka. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 14;102(24): 8442-7.
- PENDÁS, A. M.; FOLGUERAS, A. R.; LLANO, E.; CATERINA, J.; FRERARD, F.; RODRÍGUEZ, F.; ASTUDILLO, A.; NOËL, A.; BIRKEDAL-HANSEN, H. & LÓPEZ-OTÍN, C.** 2004. Diet-induced obesity and reduced skin cancer susceptibility in matrix metalloproteinase 19-deficient mice. *Mol Cell Biol.* 24(12):5304-13.
- PEÑA, J.; GONGORA, A. & ESTRADA, J.** 2007. Factores de crecimiento en el desarrollo folicular, embrionario temprano e implantación. Implicancias en la producción de embriones bovinos. *Rev.MVZ. Córdoba* 12 (1): 942-954
- REMOHÍ GUTIERREZ, J. & VALENCIA LLERENA, M.** 2003. Regulación neurohormonal de la función reproductora. El eje diencefalo-hipófisis-gónadas. Ed. Panamericana En: Tratado de Obstetricia, Ginecología y Medicina de la Reproducción. Tomo 1. Madrid.
- RICHARDS, J. S.; LIU, Z. & SHIMADA, M.** 2008. Immune-like mechanisms in

- ovulation Trends Endocrinol Metab. Aug. 19(6):191-6.
- SCHAAR, H.** 1976. Functional morphology of the theca interna of the vesicular follicle in the human ovary. Acta Anal; 94: 283-298.
- SCHAFFER-SOMI, S. ; ALI AKSOY, O.; PATZL, M.; FINDIK, M.; NAL-MARAL, N.; BECERIKLISOY, H. B.; POLAT, B. & ASLAN, S.** 2005 The Activity of Matrix Metalloproteinase -2 and -9 in Serum of Pregnant and Non-Pregnant Bitches. Reprod Dom Anim 40, 46-50
- SHAO, R.** 2004. Inhibition of small ubiquitin-related modifier-1 expression by luteinizing hormone receptor stimulation is linked to induction of progesterone receptor during ovulation in mouse granulosa cells. Endocrinology, 145: p. 384 - 392.
- VELÁZQUEZ DOMÍNGUEZ, J. A. & MENDIETA MÁRQUEZ, E.** 2002. Factores que regulan el desarrollo folicular II: folículos antrales Departamento de Ciencias de la Salud, Laboratorio de Biología Molecular y Fisiología Gonadal, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, UAM-Iztapalapa.
- YANG, J. Z.; AJONUMA, L. C.; ROWLANDS, D. K.; TSANG, L. L.; LAM, S. Y.; CHEN, W. Y.; ZHOU, C. X.; CHUNG, Y. W.; CHO, C. Y.; TSE, J. Y.; JAMES, A. E. & CHAN, H. C.** 2005 The role of inducible nitric oxide synthase in gamete interaction and fertilization: a comparative study on knockout mice of three NOS isoforms. Cell Biol Int. 29 (9):785-91.