

LA FALLA EN LA OVULACIÓN COMO UN COMPONENTE DE LA PATOGENIA DE LA ENFERMEDAD QUÍSTICA OVÁRICA BOVINA: ROL DE CITOQUINAS

**BARAVALLE, M. E.¹; STASSI, A.¹; VELAZQUEZ, M. M. L.¹;
BELOTTI, M.¹; ORTEGA, H. H.¹ & SALVETTI, N. R.¹**

RESUMEN

La ovulación es considerada actualmente como un proceso inflamatorio agudo y a nivel local, las citoquinas cumplen papeles fundamentales debido a que influyen sobre la producción de diversos mediadores. Considerando los múltiples factores que intervienen en estos procesos (ovulación/inflamación), la alteración de uno o más componentes podría contribuir a la patogenia de enfermedades reproductivas como la enfermedad quística ovárica (COD), uno de los desórdenes reproductivos más frecuentes en el ganado bovino lechero. Esta enfermedad provoca cuantiosas pérdidas económicas para la producción pecuaria. En esta revisión, se actualizan conceptos asociados a la interacción entre el sistema inmune y los mecanismos fisiológicos responsables de la ovulación en el bovino.

Palabras claves: Ovarios, bovinos, enfermedad quística ovárica, citoquinas.

SUMMARY

Ovulation is currently considered an acute and local inflammatory process, and cytokines have fundamental roles because they influence the production of several mediators. Considering the multiple factors involved in these processes (ovulation / inflammation), the alteration of one or more components may contribute to the pathogenesis of reproductive diseases as cystic ovarian disease (COD), one of the most common reproductive disorders in dairy cattle. This disease causes considerable economic losses for livestock. In this review, we updated concepts associated with the interaction between the immune system and the physiological mechanisms responsible of ovulation in cattle.

Key words: Ovary, bovine, cystic ovarian disease, cytokines.

1.- Facultad de Ciencias Veterinarias (UNL). Kreder 2805. (3080) Esperanza, provincia de Santa Fe.
Manuscrito recibido el 19 de septiembre de 2013 y aceptado para su publicación el 11 de abril de 2014.

INTRODUCCIÓN

Las etapas finales del desarrollo folicular en bovinos 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 todos los componentes celulares que se encuentran en el folículo, son capaces de llevarlo a través de las etapas de maduración que culminan en la ovulación y su posterior luteinización.

La ovulación se inicia con el pico preovulatorio de LH, el cual, a su vez, es inducido por la elevada concentración de estrógenos circulantes producidos por el folículo preovulatorio en un ambiente de baja concentración de progesterona circulante. Este pico induce marcados cambios en el folículo que incluyen tanto la reiniciación de los procesos de maduración del ovocito, alteraciones funcionales en el complejo ovocito-células del cúmulo, modificaciones en la expresión génica de las células de la granulosa que las llevarán hacia la luteinización y otros cambios que provocarán finalmente la ruptura de la pared folicular (Espey *et al.*, 1994).

Hasta hace poco tiempo, se asumía que la ovulación se trataba de un fenómeno relativamente simple, involucrando a un pequeño número de factores reguladores, activados por el pico pre-ovulatorio de LH (Richards *et al.*, 2002; Espey *et al.*, 2004). Esto se basaba en los pocos cambios metabólicos necesarios para activar a las enzimas proteolíticas que degradan el área más apical del folículo ovulatorio (estigma). Sin embargo, los nuevos métodos para el estudio de la expresión génica, han permitido relacionar actualmente más de 100 genes con el proceso de ovulación y la mayoría de estos genes han sido asociados directa o indirectamente con reacciones inflamatorias agudas (Espey *et al.*, 2004). Básicamente, estos genes contribuyen

a 4 procesos fundamentales: 1) elementos de respuesta temprana que inician la reacción inflamatoria; 2) eventos proinflamatorios que llevan a la degradación proteolítica de la pared folicular; 3) antiinflamatorios endógenos que promueven la cicatrización y reparación de las áreas afectadas del ovario; y 4) protección del tejido frente al estrés oxidativo generado localmente durante el proceso ovulatorio.

Numerosas evidencias experimentales refuerzan la hipótesis de que la ovulación es un proceso inflamatorio agudo, incluyendo el hecho de que antiinflamatorios que afectan la respuesta aguda, como la indometacina, son capaces de bloquear la ovulación, mientras que los antiinflamatorios que tienen efecto sobre procesos inflamatorios crónicos, como la dexametasona, no tienen acción (Espey *et al.*, 1994; Richards *et al.*, 2008).

La llamada cascada de la inflamación consiste en la activación de agentes que median y moderan el proceso inflamatorio mediante una acción directa e indirecta sobre el tejido afectado. Colectivamente los eventos bioquímicos provocan la vasodilatación, hiperemia, exudación, edema, colagenólisis, proliferación celular y remodelación en el tejido. Durante las últimas décadas, un gran número de moléculas comúnmente asociados a la cascada inflamatoria han sido estudiados en el tejido ovárico (Espey *et al.*, 2004).

Dentro de los efectores de la respuesta inflamatoria, las citoquinas cumplen papeles fundamentales debido a que influyen sobre la producción de diversos mediadores como bradicinina, histamina, derivados eicosanoides y prostaglandinas así como a la detención del proceso que de otra manera se haría incontrolable llevando a daños importantes en células tan sensibles como los ovocitos (Richards *et al.*, 2008; Brännström *et al.*, 2010).

CITOQUINAS EN LA FOLICULOGÉNESIS Y OVULACIÓN

Numerosos estudios muestran evidencias de que las citoquinas no solo actúan durante reacciones inmunológicas sino también regulando otros procesos fisiológicos como la ovulación (Dhillon *et al.*, 2006).

En el ovario, las citoquinas son secretadas tanto por células del sistema inmune que se encuentran en el tejido conjuntivo ovárico (reclutadas desde la circulación sanguínea) (Bukulmez y Arici, 2000; Wong *et al.*, 2002), como además, por el ovocito y las células somáticas que lo rodean incluyendo las la granulosa y la teca (Brännström, 2004; Richards *et al.*, 2008). Una gran variedad de citoquinas han sido relacionadas con los distintos procesos que ocurren a nivel ovárico como la foliculogénesis, atresia folicular, ovulación y formación del cuerpo lúteo, así como también, liberación de hormonas, respuesta a reguladores hormonales, fertilidad y en ciertos caso el desarrollo de desórdenes ováricos (Sirotkin, 2011).

En función de que la reacción inflamatoria puede ser dividida en elementos proinflamatorios como parte del mecanismo de defensa, y elementos antiinflamatorios responsables de la reparación del tejido dañado, diversos estudios han documentado la producción intraovárica de citoquinas proinflamatorias durante la ovulación. La presencia de tales citoquinas ha sido demostrada en mamíferos tanto en líquido folicular como en tejido ovárico (Espey *et al.*, 2004; Brännström *et al.*, 2010). Como en otros órganos, la acción de las citoquinas proinflamatorias durante la ovulación depende de la expresión de su correspondiente receptor en las células blanco y de la producción local de antagonistas de dichas citoquinas. Entre las citoquinas proinflamatorias se destacan: el sistema de la interleuquina-1 (IL1) compuesto por las

IL-1 α y IL-1 β , el antagonista del receptor de IL (IL-1RA) y sus receptores IL-1R1 e IL-1R2; la IL-6; IL-8; interferón- α (INF- α) y el Factor de Necrosis Tumoral- α (TNF- α) (Gérard *et al.*, 2004; Sakumoto y Okuda, 2004). Ha sido demostrado que los componentes del sistema IL-1 tienen numerosos sitios de síntesis en el ovario, a su vez, existe evidencia del rol de IL-1 en la estimulación de células ováricas, supresión de la apoptosis y en el crecimiento folicular (Gérard *et al.*, 2004; Brännström *et al.*, 2010).

El sistema de la IL-1 ha sido estudiado y caracterizado en muchas especies en relación a sus acciones dentro del ovario. Existe cierta compartimentación de los diferentes componentes del sistema dentro y alrededor del folículo durante la foliculogénesis, aunque parecen existir ciertas diferencias en este sentido entre especies.

En la rata, se ha detectado el ARNm para la IL-1 β en el ovario inmaduro, y un modesto aumento de los niveles del mismo después de la estimulación gonadotrópica para inducir el crecimiento folicular hasta la fase de folículo preovulatorio (Hurwitz *et al.*, 1991a).

Mediante hibridación in situ pudieron localizarse los transcritos de IL-1 β en las células de la granulosa, de la teca y ovocito en los folículos preantrales y antrales tempranos (Kol *et al.*, 1999a). Martoriati *et al.* (2003) demostraron la expresión de IL-1 β en líquido folicular y en células de la granulosa durante el desarrollo folicular, en equinos. Por otro lado, la capa de células de la teca es el compartimento donde se expresa mayormente la IL-1 β durante la ovulación en ratas y se ha observado un incremento de la expresión de aproximadamente cinco veces en la fase preovulatoria. A su vez, en los folículos preovulatorios de ratón, ambas IL-1 α e IL-1 β son expresadas en células de la teca (Espey *et al.*, 2004). El subtipo de

receptor más importante en el ovario de rata durante la foliculogénesis es el receptor de tipo 1 (IL-1R1), que en el folículo se expresa de manera elevada pero con niveles constantes contrastando la muy baja expresión de IL-1R2 (Scherzer *et al.*, 1996). Detallados estudios de hibridación *in situ* mostraron que el IL-1R1 no se expresa en los folículos primordiales o primarios en ovarios de rata, pero aparece en los folículos preantrales, donde la expresión más fuerte se observó en las células de la granulosa (Wang *et al.*, 1997). Más precisamente, el IL-1R1 fue localizado en las células de la granulosa de la pared y del cumulus con una tenue marcación en los ovocitos (Kol *et al.*, 1999a). Un componente importante del sistema de la IL-1 intraovárico es el antagonista de origen natural del receptor de IL-1 (IL-1RA), que actúa como un atenuador de la acción de la IL-1. El IL-1RA se expresa en células de la granulosa de los folículos preantrales, pero no en los folículos en etapas anteriores (Wang *et al.*, 1997).

En el ovario de ratón, la distribución de las proteínas del sistema IL-1 fue caracterizada mediante inmunohistoquímica (Simón *et al.*, 1994). En contraste con la localización en el ovario de rata, las IL-1 α y -1 β y el IL-1R1 están presentes exclusivamente en la teca de los folículos en crecimiento, con la excepción de la IL-1 R1 que también está presente en el citoplasma de los ovocitos (Kol *et al.*, 1999b).

Tanto en el ovario de rata como de ratón, se ha descrito la expresión diferencial durante la foliculogénesis de los IL-1R1 e IL-1R2, asociados a varias funciones tisulares tales como apoptosis, esteroidogénesis, angiogénesis y producción de prostaglandinas (Scherzer *et al.*, 1996). Además, en el ovario humano, tanto la IL-1 α como la IL-1 β se expresan en las células de la granulosa siendo mayoritaria la IL-1 β (Hurwitz *et al.*,

1992). En la mujer, las acciones de la IL-1 en el folículo durante la foliculogénesis se presume que ocurren tanto de la granulosa como en la teca ya que la IL-1R1 se expresa en estos dos compartimentos foliculares (Hurwitz *et al.*, 1992).

Murayama *et al.* (2010) mostraron que el ARNm para IL-1R1 se expresa en las células de la teca en folículos antrales antes y después de la selección folicular en el ovario bovino y que el factor de crecimiento de endotelios vasculares (VEGF) estimula la expresión de IL-1 β y de IL-1R1 en células tecales en cultivo. Por otra parte, muchos estudios han caracterizado la expresión del sistema de IL-1 en el cuerpo lúteo bovino y en endometrio de la misma especie (Nishimura *et al.*, 2004; Tanikawa *et al.*, 2005; Majewska *et al.*, 2010).

La IL-1 β ha sido ampliamente estudiada, y posee sus mayores efectos funcionales y estructurales como elemento de respuesta temprana del proceso inflamatorio en el ovario (Brännström, 2004). Sin embargo, numerosos estudios se han centrado en el efecto de la IL-1 sobre la esteroidogénesis (Gérard *et al.*, 2004). En células de la granulosa de folículos bovinos se determinó que la IL-1 β modifica la síntesis de progesterona y estradiol (Baratta *et al.*, 1996) y durante la ovulación incrementa la producción local de esteroides, metaloproteasas de la matriz (MMPs: del inglés Matrix Metalloproteinases) y sustancias vasoactivas (Brännström, 2004). En estudios *in vitro* se ha demostrado que la IL- β inhibe la producción de progesterona en células de la granulosa en diversas especies (rata: Gottschall *et al.*, 1987, 1988; Kasson y Gorospe, 1989; Brännström *et al.*, 1993; cerdo: Fukuoka *et al.*, 1989; conejo: Bréard *et al.*, 1998). Por el contrario, la producción de progesterona por las células de la granulosa aumenta *in vitro* en el ganado bovino debido a la IL-1 (Baratta *et al.*

1996), y a la IL-1 α en los seres humanos (Sjogren *et al.*, 1991), así como en folículos preovulatorios de hámster (Nakamura *et al.*, 1990). Este efecto puede ser provocado por la hidrólisis de esfingomielina y la producción de ceramida (Santana *et al.*, 1996). Otros estudios han demostrado que no hay un efecto evidente de la IL-1 β en la producción de progesterona (bovinos: Nothnick y Pate 199; Acosta *et al.*, 1998; mujer: Barak *et al.*, 1992). Además, la IL-1 puede tener algún efecto sobre la producción de 17 β -estradiol. Se ha demostrado *in vitro* en células de la granulosa humanas que la IL-1 inhibe la producción de 17 β -estradiol (Barak *et al.*, 1992), probablemente por el aumento de la producción de óxido nítrico (Tobai y Nishiya, 2001). La IL-1 también podría inhibir la actividad de la aromataza P450 (Yasuda *et al.*, 1990, Ghersevich *et al.*, 2001), así como otras enzimas implicadas en la síntesis del 17 β -estradiol (Hurwitz *et al.*, 1991b, Ghersevich *et al.*, 2001). Baratta *et al.* (1996) observaron un resultado similar en el ganado bovino. En células de la granulosa de rata, Gottschall *et al.* (1989) y Zhou y Galway (1991) han demostrado una inhibición dependiente de la dosis de IL-1 β en la producción de estrógenos dependiente de FSH. Puede asumirse la hipótesis que existe un efecto de la IL-1 β sobre el receptor de FSH, ya que en el ovario de rata la IL-1 β disminuye la cantidad de receptores para esta gonadotropina (Gottschall *et al.*, 1987, 1988, Kasson y Gorospe, 1989).

Por su parte, la IL-6 es una citoquina multifuncional con un amplio espectro de actividades biológicas incluyendo la inducción de proteínas de fase aguda. Su expresión ha sido asociada a la angiogénesis en los folículos en desarrollo y se ha localizado principalmente en las células endoteliales. La IL-6 aumenta la permeabilidad vascular

y participa en la neovascularización, funciones fundamentales durante la ovulación y formación del cuerpo lúteo (Brännström *et al.*, 1994; Nilsson *et al.*, 2005).

Una gran variedad de células son capaces de secretar esta citoquina en el ovario incluyendo fibroblastos, macrófagos, linfocitos y células de la granulosa. Se ha sugerido que, en el ovario, la IL-6 actúa potenciando la esteroidogénesis. Esta IL es un potente inductor de cininógeno T que se incrementa durante la ovulación, atribuyéndole una función reguladora de la localización y grado de proteólisis durante este proceso (Brännström *et al.*, 1994).

Además, la IL-6 fue identificada en el líquido folicular en humanos y equinos, sugiriendo un papel como regulador local de la función ovárica a través de las células de la granulosa (Alpizar *et al.*, 1993).

La IL-8 es una citoquina quimiotáctica asociada con la ovulación en el ovario de los mamíferos y está también involucrada en el reclutamiento y la activación de los neutrófilos. En el ovario humano, se han encontrado grandes concentraciones de IL-8 en el líquido de folículos preovulatorios (Runesson *et al.*, 1996), y tanto las células del estroma ovárico como las células granulosa-luteínicas expresan ARNm para IL-8 (Arici *et al.*, 1996). En el ovario bovino, la IL-8 se encuentra en el líquido folicular durante el desarrollo de los folículos y su concentración aumenta en la medida que estos se desarrollan (Shimizu *et al.*, 2013). Un estudio reciente informó que la IL-8 se expresa en el cuerpo lúteo (CL) durante todo el ciclo estral en el ovario bovino (Jiemtaweeboon *et al.*, 2011; Shimizu *et al.*, 2013).

Junto con la IL-1 β , la IL-8 juega un rol crítico en eventos preovulatorios. Existe evidencia de la participación de IL-8 y su receptor CXCR1 en el desarrollo folicular

en bovinos y en eventos como atresia, ovulación, esteroidogénesis y formación del cuerpo lúteo (Bornstein *et al.*, 2004; Murayama *et al.*, 2010; Shimizu *et al.*, 2012). Büscher *et al.* (1999) arribaron a la conclusión de que la IL-8 está involucrada en las interacciones celulares en folículos preovulatorios humanos y juega un rol importante en el proceso de ovulación.

Por su parte, el TNF- α y sus receptores, se encuentran presentes en los folículos en desarrollo en el ovario de diversas especies incluyendo ratas (Marcinkiewicz *et al.*, 1994), ratones (Chen *et al.*, 1993), conejos (Bagavandoss *et al.*, 1990) y seres humanos (Roby *et al.*, 1990). Se ha descrito que el TNF- α inhibe la producción de 17- β -estradiol inducida por FSH, insulina o IGF-I en células de la granulosa y también inhibe la producción de androstenediona estimulada por LH en las células de la teca (Sakumoto y Okuda, 2004). Además, modula la esteroidogénesis basal o inducida por gonadotropinas y la secreción proteica en células de la granulosa y la teca *in vitro* (Terranova *et al.*, 1997). Por lo tanto, se ha sugerido que el TNF- α participa en la regulación de la función de las células foliculares y por consiguiente, en la ovulación.

En bovinos, los máximos niveles de TNF- α han sido detectados en los folículos dominantes. En ovinos, la inyección de anticuerpos anti-TNF- α luego de la administración de GnRH inhibe la ovulación (Murdoch *et al.*, 1997). Tanto la IL-1 como el TNF- α inducen la producción de mediadores ovulatorios tales como la progesterona y prostaglandinas, y además, promueven la ovulación en ovarios de ratas perfundidos *in vitro*, apoyando la hipótesis de que dichas citoquinas son importantes reguladores paracrinos del proceso ovulatorio (Bornstein *et al.*, 2004).

Por otro lado, dentro de las citoquinas con

actividad antiinflamatoria, se sabe que la IL-4 es expresada por diferentes tipos celulares. Se ha reportado que IL-4 inhibe la respuesta inflamatoria en la piel (Hwang *et al.*, 2007) y disminuye las manifestaciones de artritis (Finnegan *et al.*, 2003). La particularidad de IL-4, que la diferencia del resto de las interleuquinas es que suprime la inflamación cuando interactúa con el receptor de IL-4 (IL-4R) (Bonder *et al.*, 1998; Mozo *et al.*, 1998; Hart *et al.*, 1999). Este receptor ha sido detectado en una variedad de células, y está presente en todos los fibroblastos (Doucet *et al.*, 1998), incluyendo los fibroblastos tecales en los folículos durante el proceso ovulatorio (Leo *et al.*, 2001), con lo cual se sugirió que el rol potencial de la IL-4 en la ovulación, está íntimamente asociado a su capacidad de interacción con el receptor IL-4R suprimiendo la producción de citoquinas proinflamatorias IL-1 y TNF- α (Bonder *et al.*, 1998), pudiendo interrumpir de esta manera el proceso ovulatorio/inflamatorio.

Sumado a esto, experiencias previas demostraron que IL-4 podría estar involucrada en la regulación de la esteroidogénesis en varios tejidos, ya que es capaz de aumentar la expresión de la enzima 3- β -hidroxiesteroidehidrogenasa (3- β -HSD) tipo 1 y tipo 2 las cuales están involucradas en el metabolismo de hormonas esteroides (Simard *et al.*, 2005). Particularmente en células ováricas, IL-4 aumenta la expresión de 3- β -HSD tipo 2, la cual interviene en la síntesis de hormonas esteroides, aumentando de esta manera la liberación de progesterona (Hashii *et al.*, 1998) y dejando en evidencia otra vía de acción directa sobre el ovario. También se ha establecido la expresión de IL-4 e IL-4R en la glándula adrenal bovina y los efectos de IL-4 sobre la liberación de cortisol y andrógenos adrenales. Esto demuestra que en condiciones inflamatorias, existe una comunicación estrecha entre el sistema inmune

y el endocrino, donde IL-4 juega un rol importante y coordinado con la respuesta de la adrenal a dicho estrés (Woods y Judd, 2008).

Por otra parte existen una gran cantidad de factores de crecimiento, entre ellos los pertenecientes a la Superfamilia del Factor de Crecimiento Transformante Beta (TGFB), que son expresados por las células somáticas ováricas y ovocitos en desarrollo, son considerados importantes citoquinas y actúan ejecutando funciones de regulación intraovárica (Nilsson *et al.*, 2003; Karimi-Googheri *et al.*, 2013).

Estudios llevados a cabo en distintas especies han demostrado la expresión diferencial de los distintos miembros de la superfamilia de TGFB en los componentes del folículo, tanto en el ovocito como en las células somáticas, en función del estadio de desarrollo folicular. Numerosas evidencias experimentales indican que dichas proteínas cumplen funciones en múltiples aspectos del desarrollo folicular incluyendo el reclutamiento de los folículos primordiales, la proliferación y apoptosis de las células de la granulosa, esteroidogénesis, expresión de receptores para gonadotrofinas, maduración del ovocito, ovulación, luteinización y formación del cuerpo lúteo. TGFB es producido en roedores y humanos en las células de la granulosa y de la teca, mientras que en ovejas, vacas y cerdas es principalmente producido por las células de la teca (Nilsson *et al.*, 2003; Sisco y Pfeffer 2007).

TRANSTORNOS REPRODUCTIVOS: ENFERMEDAD QUÍSTICA OVÁRICA

En base a lo que hemos mencionado, las alteraciones en el proceso inflamatorio asociado a la ovulación y su regulación, podrían ser parte importante de la patología

de algunos importantes trastornos reproductivos relacionados con la anovulación, cuya incidencia va en aumento en relación directa a la intensificación de la producción.

Dados los intrincados mecanismos que regulan la cascada inflamatoria previamente descritos, que incluyen diferentes grupos de genes asociados con el inicio de la reacción inflamatoria, la degradación proteolítica de la pared del folículo ovárico y la activación local de mecanismos antiinflamatorios que promueven la reparación de la pared folicular luego de la ovulación; pequeñas modificaciones en los mecanismos de transcripción y/o traducción de estos genes, podrían producir importantes alteraciones a nivel de la dinámica folicular normal.

La enfermedad quística ovárica (COD, del inglés: Cystic Ovarian Disease) es uno de los desórdenes reproductivos más frecuentes en vacas lecheras, en especial las de alta producción, provocando cuantiosas pérdidas económicas para la producción pecuaria debido al incremento en los intervalos parto-concepción y parto-parto (Vanholder *et al.*, 2006; Rizzo *et al.*, 2011). Dicha enfermedad puede afectar hasta un 15% de las vacas en el período posparto, antes del reinicio de la actividad cíclica regular (Garverick, 1997; Peter, 2004; Nelson *et al.*, 2010).

La COD puede definirse como la interrupción de los ciclos estrales normales producida por la persistencia en el ovario de una o más estructuras foliculares anovulatorias que superan los 20 mm de diámetro, por un período mayor a 10 días en ausencia de tejido luteal (Silvia *et al.*, 2002). Por otro lado, Bartolomé *et al.* (2005), basados en información obtenida a partir de ultrasonografía y concentración de hormonas, definieron esta condición como la presencia de uno o múltiples folículos ováricos de un diámetro de 18 mm o más, en ausencia de

cuerpo lúteo y con falta de tonicidad uterina a la palpación.

Los quistes han sido clasificados como foliculares o luteales. Los quistes foliculares tienen usualmente una pared delgada y secretan baja concentración de progesterona y grandes concentraciones de 17- β estradiol. A su vez, según estudios histológicos los quistes foliculares se clasifican en quistes con o sin células de la granulosa (Isobe, 2007).

La hipótesis más aceptada en la actualidad acerca de la patogenia de la COD involucra un desequilibrio neuroendocrino a nivel del eje hipotálamo-hipofisario-gonadal, de esta manera, la causa primaria de la enfermedad podría ser una deficiencia en la onda pre-ovulatoria de LH o un patrón de liberación aberrante de dicha hormona (Peter, 2004; Vanholder *et al.*, 2006).

Esta disfunción puede tomarse como un trastorno plurifuncional de la ovulación, que tiene como base la predisposición hereditaria sumada a causas ambientales tales como el estrés, manejo nutricional inadecuado, enfermedades infecciosas, y manejo en general. A la falla de la funcionalidad hipotálamo-hipofisaria se le suma un componente intraovárico que ocasiona la disfunción de este órgano. Si bien el conocimiento acerca de los cambios celulares y moleculares que ocurren en el ovario previo al proceso de anovulación aún es escaso, algunos autores han descrito alteraciones en la producción de factores de crecimiento por parte de células de la granulosa (Ortega *et al.*, 2008; Rey *et al.*, 2010), en sus proteínas (Velázquez *et al.*, 2010; Rodríguez *et al.*, 2011) así como también, síntesis aberrante de proteínas en la matriz extracelular (MEC) de los quistes (Salveti *et al.*, 2004). Otra alteración importante en las células que componen el folículo quístico es la modificación en la expresión de

los genes responsables de la proliferación, apoptosis y diferenciación celular, los cuales probablemente estén involucrados en la anovulación y en el proceso de formación y mantenimiento de los quistes (Salveti *et al.*, 2004; Ortega *et al.*, 2007; Salvetti *et al.*, 2009; Salvetti *et al.*, 2010).

En humanos se ha descrito que los niveles de citoquinas, como IL-6 y TNF- α , están alterados en presencia de quistes. Se ha descrito que los niveles de estas ILs en líquido folicular fueron superiores en individuos con quistes, respecto de individuos sanos y además fueron mayores que en plasma, indicando una producción local de estas citoquinas (Amato *et al.*, 2003). Adicionalmente Kolbus *et al.*, (2006) y Wu *et al.*, (2007) concluyeron que las IL-1 α e IL-1 β estarían asociadas a la presencia de folículos quísticos en humanos. En ratones, la expresión de TNF- α e IL-6 fue mayor en las células que rodean los quistes foliculares respecto de ratones sanos, siendo mayor en células de la teca y en el estroma (Rohini *et al.*, 2000).

Por otro lado, se han demostrado en humanos importantes modificaciones en la expresión y regulación de diversos componentes del sistema TGFB, asociados con el síndrome poliquístico ovárico (Kumanov *et al.*, 2005).

Existe una gran cantidad de información acerca de la presencia de citoquinas en el desarrollo folicular en el ovario normal del bovino, sin embargo, no ha sido dilucidado aún como la expresión de estas citoquinas está alterada durante la disfunción ovárica, en la COD específicamente.

A pesar de estos resultados, sigue siendo necesario aumentar el conocimiento en lo que respecta a la falla ovárica a nivel celular y molecular durante el proceso de formación de quistes, ampliando la información obtenida hasta el momento.

CONCLUSIONES

El proceso de ovulación es inducido por la liberación hipofisaria de un pico de LH e involucra diferentes tipos celulares y cambios precisos en los patrones de expresión génica dentro de esas células, lo que lleva a un proceso similar a una inflamación aguda localizada.

Las citoquinas son los principales efectores de la respuesta inflamatoria en el ovario y cumplen un rol fundamental debido a que influyen sobre la producción de diversos mediadores de la cascada inflamatoria y controlan, a través de los componentes antiinflamatorios, dicho proceso para evitar una reacción exacerbada que afectaría la viabilidad de las células germinales con las consecuencias esperadas sobre la fertilidad.

En base a los conocimientos actuales, las alteraciones en el proceso inflamatorio asociado a la ovulación y su regulación, podrían ser parte importante de la patogenia de algunos importantes trastornos reproductivos en los cuales se ve afectada la ovulación.

BIBLIOGRAFIA

- ACOSTA, T.J.; MIYAMOTO, A.; OZAWA, T.; WIJAYAGUNAWARDANE, M.P. & SATO, K. 1998. Local release of steroid hormones, prostaglandin E2, and endothelin-1 from bovine mature follicles in vitro: effects of luteinizing hormone, endothelin-1, and cytokines. *Biol Reprod.* 59: 437-443.
- ALPIZAR, E. & SPICER, L.J. 1993. Effects of Interleukin-6 on Proliferation and Follicle-Stimulating Hormone-Induced Estradiol Production by Bovine Granulosa Cells In Vitro: Dependence on Size of Follicle. *Biol Reprod.* 49: 38-43.
- AMATO, G.; CONTE, M.; MAZZIOTTI, G.; LALLI, E.; VITOLO, G.; TUCKER, A.T.; BELLASTELLA, A.; CARELLA, C. & IZZO, A. 2003. Serum and follicular fluid cytokines in polycystic ovary syndrome during stimulated cycles. *Obstet Gynecol.* 101: 1177-1182.
- ARICI, A.; ORAL, E.; BUKULMEZ, O.; BURADAGUNTA, S.; ENGIN, O. & OLIVE, D.L. 1996. Interleukin-8 expression and modulation in human preovulatory follicles and ovarian cells. *Endocrinol.* 137: 3762- 3769
- BARAK, V.; YANAI, P.; TREVERS, A.J.; ROISMAN, I.; SIMON, A. & LAUFER, N. 1992. Interleukin-1: local production and modulation of human granulosa luteal cells steroidogenesis. *Fertil Steril.* 58: 719-725.
- BARATTA, M.; BASINI, G.; BUSSOLATI, S. & TAMANINI, C. 1996. Effects of interleukin-1b fragment (163-171) on progesterone and estradiol-17b release by bovine granulosa cells from different size Follicles. *Regulatory Peptides.* 67: 187-194.
- BARTOLOMÉ, J.A.; THATCHER, W.W.; MELENDEZ, P.; RISCO, C.A. & ARCHBALD, L.F. 2005. Strategies for the diagnosis and treatment of ovarian cysts in dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc.* 227: 1409-1414.
- BONDER, C.S.; DICKENSHEETS, H.L.; FINLAY-JONES, J.J.; DONNELLY, R.P. & HART, P.H. 1998. Involvement of the IL-2 receptor gamma-chain (gammac) in the control by IL-4 of human monocyte and macrophage proinflammatory mediator production. *J Immunol.* 160: 4048-4056.
- BORNSTEIN, S.R.; RUTKOWSKI, H. & VREZAS, I. 2004. Cytokines and steroidogenesis. *Mol. Cel. Endocrinol.* 215. 135-141.
- BRÄNNSTRÖM, M.; LIND, A.K. & DAHM-KÄHLER, P. 2010. Ovulation: a molecular

- view. Reproductive Endocrinology and Infertility: Integrating Modern Clinical and Laboratory Practice. D.T. Carrell and C.M. Peterson (eds.). Springer Science+Business Media. 119-131.
- BRÄNNSTRÖM, M.; NORMAN, R.J.; SEAMARK, R.F. & ROBERTSON, S.A.** 1994. Localization of leukocyte subsets in the follicle wall and in the corpus luteum throughout the human menstrual cycle. *Fertil Steril.* 61: 488-495.
- BRÄNNSTRÖM, M.; WANG, L. & NORMAN, R.J.** 1993. Ovulatory effect of interleukin-1? on the perfused rat ovary. *Endocrinol.* 132: 399-404.
- BRÄNNSTRÖM, M.** 2004. Chapter 15: Potential Role of Cytokines in Ovarian Physiology: The Case for Interleukin-1 In: Leung PCK, Adashi EY. *The Ovary*. 2nd Edition. Elsevier Academic Press.
- BRÉARD, E.; DELARUE, B.; BENHAIM, A.; FERAL, C. & LEYMARIE, P.** 1998. Inhibition by rabbit granulosa and theca cells: effects on gonadotropin-induced progesterone production. *Euro J Endocrinol.* 138: 328-336.
- BUKULMEZ, O. & ARICI, A.** 2000. Leukocytes in ovarian function. *Hum Reprod Update.* 6: 1-15
- BÜSCHER, U.; CHEN, F.C.; KENTENICH, H. & SCHMIADY, H.** 1999. Cytokines in the follicular fluid of stimulated and nonstimulated human ovaries; is ovulation a suppressed inflammatory reaction? *Hum. Reproduc.* 14: 162-166.
- CHEN, H.L.; MARCINKIEWICZ, J.L.; SANCHO-TELLO, M.; HUNT, J.S. & TERRANOVA, P.F.** 1993. Tumor necrosis factor-? gene expression in mouse oocytes and follicular cells. *Biol Reprod.* 48: 707-714.
- BAGAVANDOSS, P.; WIGGINS, R.C.; KUNKEL, S.L.; REMICK, D.G. & KEYES, P.L.** 1990. Tumor necrosis factor production and accumulation of inflammatory cells in the corpus luteum of pseudo-pregnancy and pregnancy in rabbits. *Biol Reprod.* 42: 367-376.
- DHILLO, W.S.; MURPHY, K.G. & BLOOM, S.** 2006. ENDOCRINOLOGY: THE NEXT 60 YEARS. *J ENDOCRINOL.* 190: 7-10.
- DOUCET, C.; BROUTY-BOYÉ, D.; POTTIN-CLEMENCEAU, C.; JASMIN, C.; CANNONICA, G.W. & AZZARONE, B.** 1998. IL-4 and IL-13 specifically increase adhesion molecule and inflammatory cytokine expression in human lung fibroblasts. *Int Immunol.* 10: 1421-1433.
- ESPEY, L.L.; BELILINGER, A.S. & HEALY, J.A.** 2004. Chapter 9: Ovulation: An Inflammatory Cascade of Gene Expression In: Leung PCK, Adashi EY. 2004. *The Ovary*. 2nd Edition. Elsevier Academic Press.
- ESPEY, L.L.** 1994. Current status of the hypothesis that mammalian ovulation is comparable to an inflammatory reaction. *Biol Reprod.* 50: 233-238.
- FINNEGAN, A.; KAPLAN, C.D.; CAO, Y.; EIBEL, H.; GLANT, T.T. & ZHANG, J.** 2003. Collagen-induced arthritis is exacerbated in IL-10-deficient mice. *Arthritis Res Ther.* 5: 18-24.
- FUKUOKA, M.; YASUDA, K.; TAIH, S.; TAKAKURA, K. & MORI, T.** 1989. Interleukin-1 stimulates growth and inhibits progesterone secretion in cultured of porcine granulosa cells. *Endocrinology* 124: 884-890.
- GARVERICK, H.A.** 1997. Ovarian follicular cysts in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80: 995-1004.
- GÉRARD, N.; CAILLAUD, M.; MARTORIATI, A.; GOUDET, G. & LALMANACH, A.C.** 2004. The interleukin-1 system and female reproduction. *J. Endocrinol.* 180: 203-212.

- GHERSEVICH, S.; ISOMAA, V. & VIHKO, P.** 2001. Cytokine regulation of the expression of estrogenic biosynthetic enzymes in cultured rat granulosa cells. *Mol Cell Endocrinol.* 172: 21-30.
- GOTTSCHALL, P.E.; KATSUURA, G.; DAHL, R.R.; HOFFMANN, S.T. & ARIMURA, A.** 1988. Discordance in the effects of interleukin-1 on rat granulosa cell differentiation induced by follicle-stimulating hormone or activators of adenylate cyclase. *Biol Reprod.* 39: 1074-1085.
- GOTTSCHALL, P.E.; UEHARA, A.; TALBOT HOFFMANN, S. & ARIMURA, A.** 1987. Interleukin-1 inhibits follicle stimulating hormone-induced differentiation in rat granulosa cells in vitro. *Biochem Biophys Res Comm.* 149: 502-509.
- GOTTSCHALL, P.E.; KATSUURA, G. & ARIMURA, A.** 1989. Interleukin-1 suppresses follicle-stimulating hormone-induced estradiol secretion from cultured ovarian granulosa cells. *J Reprod Immunol.* 15: 281-290.
- HART, P.H.; BONDER, C.S.; BALOGH, J.; DICKENSHEET, H.L.; DONNELLY, R.P. & FINLAY-JONES, J.J.** 1999. Differential responses of human monocytes and macrophages to IL-4 and IL-13. *J. Leukoc Biol.* 66: 575-578.
- HASHII, K.; FUJIWARA, H.; YOSHIOKA, S.; KATAOKA, N.; YAMADA, S.; HIRANO, T.; MORI, T.; FUJII, S. & MAEDA, M.** 1998. Peripheral blood mononuclear cells stimulate progesterone production by luteal cells derived from pregnant and non-pregnant women: possible involvement of interleukin-4 and interleukin-10 in corpus luteum function and differentiation. *Hum Reprod.* 13: 2738-2744.
- HURWITZ, A.; LOUKIDES, J.; RICCIARELLI, E.; BOTERO, L.; KATZ, E.; MCALLISTER, J.M.; GARCIA, J.E.; ROHAN, R.; ADASHI, E.Y. & HERNANDEZ, E.R.** 1992. Human intraovarian interleukin-1 (IL-1) system: Highly compartmentalized and hormonally dependent regulation of the genes encoding IL-1, its receptor, and its receptor antagonist. *J. Clin. Invest.* 89: 1746-1754.
- HURWITZ, A.; PAYNE, D.W.; PACKMAN, J.N.; ANDREANI, C.L.; RESNICK, C.E.; HERNANDEZ, E.R. & ADASHI, E.Y.** 1991b. Cytokine-mediated regulation of ovarian function: interleukin-1 inhibits gonadotropin-induced androgen bio-synthesis. *Endocrinol.* 129: 1250-1256.
- HURWITZ, A.; RICCIARELLI, E.; BOTERO, L.; ROHAN, R.M.; HERNANDEZ, E.R. & ADASHI, E.Y.** 1991a. Endocrine and autocrine mediated regulation of rat ovarian (theca-interstitial) interleukin-1 beta gene expression: Gonadotropin dependent preovulatory acquisition. *Endocrinol.* 129: 3427-3429.
- HWANG, H.; CHOI, S.Y. & KIM, T.Y.** 2007. IL-4 suppresses UVB-induced apoptosis in skin. *J Biochem Mol Biol.* 40: 36-43.
- ISOBE N.** 2007. Follicular cysts in dairy cows. *An. Sci. J.* 78: 1-6.
- JIEMTAWEEBOON, S.; SHIRASUNA, K.; NITTA, A.; KOBAYASHI, A.; SCHUBERTH, H.J.; SHIMIZU, T. & MIYAMOTO, A.** 2011. Evidence that polymorphonuclear neutrophils infiltrate into the developing corpus luteum and promote angiogenesis with interleukin-8 in the cow. *Reprod Biol Endocrinol.* 9: 79
- KASSON, B.G. & GOROSPE, W.C.** 1989. Effects of interleukins 1, 2 and 3 on follicle-stimulating hormone-induced differentiation of rat granulosa cells. *Mol Cell Endocrinol.* 62: 103-111.
- KOL, S.; DONESKY, B.W.; RUUTIAINEN-ALTMAN, K.; BEN-SHLOMO, I.; IRAHARA, M.; ANDO, M.; ROHAN, R.M. & ADASHI, E.Y.** 1999b. Ovarian interleukin-1

- receptor antagonist in rats: Gene expression, cellular localization, cyclic variation, and hormonal regulation of a potential determinant of interleukin-1 action. *Biol Reprod.* 61: 274-282.
- KOL, S.; RUUTIAINEN-ALTMAN, K.; SCHERZER, W.J.; BEN-SHLOMO, I.; ANDO, M.; ROHAN, R.M. & ADASHI, E.Y.** 1999a. The rat intraovarian interleukin (IL)-1 system: Cellular localization, cyclic variation and hormonal regulation of IL-1beta and of the type I and type II IL-1 receptors. *Mol. Cell. Endocrinol.* 149: 115-128.
- KOLBUS, A.; WALCH, K.; NAGELE, F.; WENZL, R.; UNFRIED, G. & HUBER, J.** 2006. Interleukin-1 alpha but not interleukin-1 beta gene polymorphism is associated with polycystic ovary syndrome. *J. Reprod. Immunol.* 73: 188-193.
- LEO, C.P.; PISARSKA, M.D. & HSUEH, A.J.W.** 2001. DNA Array Analysis of Changes in Preovulatory Gene Expression in the Rat Ovary. *Biol Reprod.* 65: 269-276.
- MAJEWSKA, M.; WOCLAWEK-POTOCKA, I.; BAH, M.M.; HAPUNIK, J.; PIO-TROWSKA, K.K.; TASAKI, Y.; ACOSTA, T.J.; OKUDA, K. & SKARZYNSKI, D.J.** 2010. Is interleukin-1 alpha a luteotropic or luteolytic agent in cattle? *Reprod.* 139: 665-72.
- MARCINKIEWICZ, J.L.; KRISHNA, A.; CHEUNG, C.M. & TERRANOVA, P.F.** 1994. Oocytic tumor necrosis factor ? : localization in the neonatal rat ovary and throughout follicular development in the adult rat. *Biol Reprod.* 50: 1251-1260.
- MARTORIATI, A. & GÉRARD, N.** 2003. Interleukin-1 (IL-1) system gene expression in granulosa cells: kinetics during terminal preovulatory follicle maturation in the mare. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 1: 42.
- MOZO, L.; GAYO, A.; SUAREZ, A.; RIVAS, D.; ZAMORANO, J. & GUTIERREZ, C.** 1998. Glucocorticoids inhibit IL-4 and mitogen-induced IL-4Ra chain expression by different posttranscriptional mechanisms. *J Allergy Clin Immunol.* 102: 968-976
- MURAYAMA, C.; KAJI, A.; MIYAUCHI, K.; MATSUI, M.; MIYAMOTO, A. & SHIMI-ZU, T.** 2010. Effect of VEGF (vascular endothelial growth factor) on expression of IL-8 (interleukin-8), IL-1b and their receptors in bovine theca cells. *Cell Biol. Int.* 34: 531-536.
- MURDOCH, W.J.; COLGIN, D.C. & ELLIS, J.A.** 1997. Role of tumor necrosis factor-alpha in the ovulatory mechanism of ewes. *J Anim Sci.* 75: 1601-5.
- NAKAMURA, Y.; KATO, H. & TERRANOVA, P.F.** 1990. Interleukin-1? increases thecal progesterone production of preovulatory follicles in cyclic hamsters. *Biol Reprod.* 43: 169-173.
- NELSON, S.; MARTIN, A. & ØSTERÅS, O.** 2010. Risk factors associated with cystic ovarian disease in Norwegian dairy cattle. *Acta Veterinaria Scandinavica.* 52:60.
- NILSSON, E.; STANFIELD, J. & SKINNER, M.** 2005. Interactions between progesterone and tumor necrosis factor-a in the regulation of primordial follicle assembly. *Reprod.* 132: 877-886.
- NISHIMURA, R.; BOWOLAKSONO, A.; ACOSTA, T.J.; MURAKAMI, S.; PIO-TROWSKA, K.K.; SKARZYNSKI, D.J. & OKUDA, K.** 2004. Possible role of interleukin-1 in the regulation of bovine corpus luteum throughout the luteal phase. *Biol. Reprod.* 71: 1688-1693.
- NOTHNICK, W.B. & PATE, J.L.** 1990. Interleukin-1? is a potent stimulator of prostaglandin synthesis in bovine luteal cells. *Biol Reprod.* 43: 898-903.
- ORTEGA, H.H.; PALOMAR, M.M.; ACOSTA, J.C.; SALVETTI, N.R.; DALLARD, B.E.; LORENTE, J.A.; BARBEITO,**

- C.G. & GIMENO, E.J.** 2008. Insulin-like growth factor I in ovarian follicles and follicular fluid of cows with spontaneous and induced cystic ovarian disease. *Res Vet Sci.* 84: 419-427.
- ORTEGA, H.H.; SALVETTI, N.R.; MÜLLER, L.A.; AMABLE, P.; LORENTE, J.A.; BARBEITO, C.G. & GIMENO, E.J.** 2007. Characterization of cytoskeletal proteins in follicular structures of cows with Cystic Ovarian Disease. *J Comp Pathol.* 136: 222-230.
- PETER, A.T.** 2004. An update on cystic ovarian degeneration in cattle. *Reprod Domest Anim.* 39: 1- 7.
- REY, F.; RODRÍGUEZ, F.M.; SALVETTI, N.R.; PALOMAR, M.M.; BARBEITO, C.G.; ALFARO, N.S. & ORTEGA, H.H.** 2010. "Insulin-like Growth Factor-II and Insulin-like Growth Factor Binding Proteins in Bovine Cystic Ovarian Disease" *J. Compar. Pathol.* 142: 193-204.
- RICHARDS, J.S.; LIU, Z. & SHIMADA, M.** 2008. Immune-like mechanisms in ovulation. *T. Endocrinol Metabol.* 19: 191-196.
- RICHARDS, J.S.; RUSSELL, D. L.; OCHSNER, S.; HSIEH, M.; DOYLE, K.H.; FALENDER, A.E.; LO, Y.K. & SHARMA, S.C.** 2002. Novel Signaling Pathways That Control Ovarian Follicular Development, Ovulation, and Luteinization. *Endocrine Reviews.* 57: 195-220
- RIZZO, A.; CAMPANILE, D.; MUTINATI, M.; MINOIA, G.; SPEDICATO, M. & SCIORSCI, R.L.** 2011. Epidural vs intramuscular administration of lecorelin, a GnRH analogue, for the resolution of follicular cysts in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 126: 19-22.
- ROBY, K.F.; WEED, J.; LYLES, R. & TERRANOVA, P.F.** 1990. Immunological evidence for a human ovarian tumor necrosis factor-alpha. *J Clin Endocrinol Metab.* 71: 1096-1102.
- RODRÍGUEZ, F.M.; SALVETTI, N.R.; PANZANI, C.G.; BARBEITO, C.G.; ORTEGA, H.H. & REY, F.** 2011. Influence of insulin-like growth factor-binding proteins-2 and -3 in the pathogenesis of cystic ovarian disease in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 128: 1-10.
- ROHINI, R.; CHANG, M.; CHAPMAN, J. & MICHAEL, S.** 2000. Alteration of Cytokine Production in Follicular Cystic Ovaries Induced in Mice by Neonatal Estradiol Injection. *Am. J. Reproduc Immunol.* 44. 80-88.
- RUNESSON, E.; BOSTRÖM, E.K.; JANSON, P.O. & BRÄNNSTRÖM, M.** 1996. The human preovulatory follicle is a source of the chemotactic cytokine interleukin-8. *Mol Hum Reprod.* 2: 245-250
- SAKUMOTO, R. & OKUDA, K.** 2004. Possible Actions of Tumor Necrosis Factor- α in Ovarian Function. *J Reprod Dev.* 50:39-46.
- SALVETTI, N.R.; GIMENO, E.J.; LORENTE, J.A. & ORTEGA, H.H.** 2004. Expression of cytoskeletal proteins in the follicular wall of induced ovarian cysts. *Cell Tissues Organs.* 178: 117-125.
- SALVETTI, N.R.; PANZANI, C.G.; GIMENO, E.J.; NEME, L.G.; ALFARO, N.S. & ORTEGA, H.H.** 2009. An imbalance between apoptosis and proliferation contributes to follicular persistence in polycystic ovaries in rats. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 7: 68.
- SALVETTI, N.R.; STANGAFERRO, M.L.; PALMAR, M.M.; ALFARO, N.A.; REY, F.; GIMENO, E.J. & ORTEGA, H.H.** 2010. Cell proliferation and survival mechanisms underlying the abnormal persistence of follicular cysts in bovines with cystic

- ovarian disease induced by ACTH. *Anim. Reproduct. Sci.* 122:98-110.
- SANTANA, P.; LLANES, L.; HERNANDEZ, I.; GONZALEZ-ROBAYNA, I.; TABRAUE, C.; GONZALEZ-REYES, J.; QUINTANA, J.; ESTEVEZ, F.; RUIZ DE GALARRETA, C.M. & FANJUL, L.F.** 1996. Interleukin-1 beta stimulates sphingomyelin hydrolysis in cultured granulosa cells: evidence for a regulatory role of ceramide on progesterone and prostaglandin biosynthesis. *Endocrinol.* 137: 2480-2489.
- SCHERZER, W.J.; RUUTIAINEN-ALTMAN, K.S.; PUTOWSKI, L.T.; KOL, S.; ADASHI, E.Y. & ROHAN, R.M.** 1996. Detection and in vivo hormonal regulation of rat ovarian type I and type II interleukin-1 receptor mRNAs: increased expression during the periovulatory period. *J Soc Gynecol Investig.* 3: 131-139.
- SHIMIZU, T.; IMAMURA, E.; MAGATA, F.; MURAYAMA, C. & MIYAMOTO, A.** 2013. Interleukin-8 stimulates progesterone production via the MEK pathway in ovarian theca cells. *Mol Cell Biochem.* 374: 157-61.
- SHIMIZU, T.; KAJI, A.; MURAYAMA, C.H.; MAGATA, F.; SHIRASUNA, K.; WAKAMIYA, K.; OKUDA, K. & MIYAMOTO, A.** 2012. Effects of interleukin-8 on estradiol and progesterone production by bovine granulosa cells from large follicles and progesterone production by luteinizing granulosa cells in culture. *Cytokine.* 57: 175-181.
- SILVIA, W.J.; ALTER, T.B.; NUGENT, A.M.; LARANJA, D.A. & FONSECA, L.F.** 2002. Ovarian follicular cysts in dairy cows: an abnormality in folliculogenesis. *Domest Anim Endocrinol.* 23: 167-177.
- SIMARD, J.; RICKETTS, M.L.; GINGRAS, S.; SOUCY, P.; FELTUS, F.A. & MELNER, M.H.** 2005. Molecular biology of the 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase/delta5-delta4 isomerase gene family. *Endocr Rev.* 26: 525-82.
- SIMÓN, C.; FRANCES, A.; PIQUETTE, G. & POLAN, M.L.** 1994. Immunohistochemical localization of the interleukin-1 system in the mouse ovary during follicular growth, ovulation, and luteinization. *Biol. Reprod.* 50: 449-457.
- SIROTKIN, A.** 2011. Cytokines: Signalling molecules controlling ovarian functions. *Intern. J. Biochem. Cell Biol.* 43: 857-861.
- SJOGREN, A.; HOLMES, P.V. & HILLEN-SJO, T.** 1991. Interleukin-1? modulates luteinizing hormone stimulated cyclic AMP and progesterone release from human granulosa cells in vitro. *Hum Reprod.* 6: 910-913.
- TANIKAWA, M.; ACOSTA, T.J.; FUKUI, T.; MURAKAMI, S.; KORZEKWA, A.; SKARZYNSKI, D.J.; PIOTROWSKA, K.K.; PARK, C. & OKUDA, K.K.** 2005. Regulation of prostaglandin synthesis by interleukin-1a in bovine endometrium during the estrous cycle. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators.* 78: 279-290.
- TERRANOVA, P.F.** 1997. Potential roles of tumor necrosis factor-? in follicular development, ovulation, and the life span of the corpus luteum. *Domest Anim Endocrinol.* 14: 1-15.
- TOBAI, H. & NISHIYA, I.** 2001. Nitric oxide mediates inhibitory effect of interleukin-1 beta on estrogen production in human granulosa-luteal cells. *J Obstet Gynaecol Res.* 27: 53-59.
- VANHOLDER, T.; OPSOMER, G. & DE KRUIF, A.** 2006. Aetiology and pathogenesis of cystic ovarian follicles in dairy cattle: a review. *Reprod Nutr Dev.* 46: 105-119.
- VELÁZQUEZ, M.M.L.; ALFARO, N.S.; DUPUY, C.; SALVETTI, N.R.; REY, F. & ORTEGA, H.H.** 2010. Heat shock protein patterns in the bovine ovary and their relation

- with cystic ovarian disease. *Anim Reprod Sci.* 118: 201-209.
- WANG, L.J.; BRÄNNSTRÖM, M.; CUI, K.H.; SIMULA, A.P.; HART, R.P.; MADDOCKS, S. & NORMAN, R.J.** 1997. Localisation of mRNA for interleukin-1 receptor and interleukin-1 receptor antagonist in the rat ovary. *J. Endocrinol.* 152: 11-17.
- WONG, K.H.; NEGISHI, H. & ADASHI, E.Y.** 2002. Expression, Hormonal Regulation, and Cyclic Variation of Chemokines in the Rat Ovary: Key Determinants of the Intraovarian Residence of Representatives of the White Blood Cell Series. *Endocrinol.* 143: 784-791
- WOODS, A.M. & JUDD, A.M.** 2008. Interleukin-4 increases cortisol release and decreases adrenal androgen release from bovine adrenal cells. *Domest Anim Endocrinol.* 34: 372-382
- WU, R.; FUJII, S.; RYAN, N.K.; VAN DER HOEK, K.H.; JASPER, M.J.; SINI, I.; ROBERTSON, S.A.; ROBKER, R.L. & NORMAN, R.J.** 2007. Ovarian leukocyte distribution and cytokine/chemokine mRNA expression in follicular fluid cells in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod.* 22: 527-535.
- YASUDA, K.; FUKUOKA, M.; TAIH, S.; TAKAKURA, K. & MORI, T.** 1990. Inhibitory effects of interleukin-1 on follicle-stimulating hormone induction of aromatase activity, progesterone secretion, and functional luteinizing hormone receptors in cultures of porcine granulosa cells. *Biol Reprod.* 43: 905-12.
- ZHOU, M.H. & GALWAY, A.B.** 1991. Inhibitory effect of interleukin-1 beta on follicle stimulating hormone (FSH) induced estrogen production by cultured rat granulosa cells. *Sheng Li Xue Bao.* 43: 67-72.