

Foliculogénesis y ovulación en la especie equina

Fernando Andrade Souza¹ / Jair Pérez Osorio² / Abisai D`Oliveira-Sousa³ /
Vicente Ribeiro do Vale Filho⁴ / Henry Marc⁵ / Liliana Chacón J.⁶ / Sergio A. Arias⁷

Resumen

El hipotálamo se considera un punto clave del control reproductivo; este órgano produce la hormona GnRH, un decapeptido que se libera en el sistema portal hipotalámico-hipofisiario para estimular la síntesis y liberación de las gonadotropinas. Las gonadotropinas son responsables de la dinámica folicular ovárica, la producción de estrógenos, la ovulación y luteinización del cuerpo lúteo, en conjunto con otras hormonas y sustancias como el factor de crecimiento parecido a la insulina (IGF-1), y la proteína plasmática asociada a preñez (PPAP-A), las cuales controlan los principales signos de comportamiento del estro y los eventos que determinan la ovulación. Dentro de los procesos de la ovulación se destacan la liberación de la prostaglandina folicular que inicia la lisis de la pared del folículo; esta lisis se asocia con el aumento en la enzima óxido nítrico sintetasa endotelial (NOSe) que aumenta el flujo sanguíneo ovárico activando los péptidos vasoactivos angiotensina II (Ang II), endotelina-1 (ET-1) y el péptido natriurético atrial (ANP). Esta revisión tiene como objetivo ampliar el conocimiento de los acontecimientos que se relacionan con el ciclo estral, la dinámica folicular y el proceso de la ovulación, para aplicarlos adecuadamente al manejo reproductivo en las yeguas.

Palabras clave: IGF-1, PPAP-A, ovulación, folicular, equino.

- 1 Médico veterinario, MSc, PhD.
Universidade Estadual de Maranhão, Bolsista PNPd, São Luis-
Maranhão, Brasil.
✉ femedvet@yahoo.com.br
- 2 Médico veterinario, MSc, PhD.
Profesor Asociado, Facultad
de Ciencias Agropecuarias,
Universidad de La Salle, Bogotá,
Colombia.
✉ jairperez@unisalle.edu.co
- 3 Médico veterinario, PhD. Pro-
fesor Adjunto III, Universidad
Estadual de Maranhão, São Luis-
Maranhão, Brasil.
✉ dr_oliv_usa@hotmail.com
- 4 Médico veterinario, MSc, PhD.
Professor Titular do Depart-
amento de Clínica e Cirurgia
Veterinárias, Universidade Federal
de Minas Gerais, Belo Horizonte,
Minas Gerais, Brasil.
✉ vrvale@vet.ufmg.br
- 5 Médico veterinario, MSc, PhD.
Professor Adjunto do Depart-
amento de Clínica e Cirurgia
Veterinárias, Universidade Federal
de Minas Gerais, Belo Horizonte,
Minas Gerais, Brasil.
✉ henrym@ufmg.br
- 6 Médica veterinaria, MSc, PhD.
Profesor Asociado, Facultad
de Ciencias Agropecuarias,
Universidad de La Salle, Bogotá,
Colombia.
✉ lchacon@unisalle.edu.co
- 7 Médico veterinario, MSc, PhD.
Profesor Asociado, Facultad
de Ciencias Agropecuarias,
Universidad de La Salle, Bogotá,
Colombia.
✉ searias@unisalle.edu.co

Folliculogenesis and Ovulation in Equine Species

Abstract

The hypothalamus is considered as a key point of reproductive control; this organ produces the GnRH hormone, a decapeptide that is released into the hypothalamic-pituitary portal system to stimulate the synthesis and release of gonadotropins. Gonadotropins are responsible for ovarian follicular dynamics, estrogen production, ovulation and luteinization of the corpus luteum, as well as other hormones and substances such as the insulin-like growth factor (IGF-1), and the Pregnancy-associated plasma protein A (PAPPA), which control the main signs of estrus behavior and the events that determine ovulation. Some of the most significant ovulation processes include the release of the follicular prostaglandin that starts the lysis of the follicle wall; this lysis is associated to the increase of the endothelial nitric oxide synthase (eNOS), which increases ovarian blood flow by activating the vasoactive peptide angiotensin II (Ang II), endothelin-1 (ET-1) and atrial natriuretic peptide (ANP). This review aims to increase awareness of the events related to the estrous cycle, follicular dynamics and the ovulation process so as to apply them properly to the management of reproduction in mares.

Keywords: IGF-1, PPAP-A, ovulation, follicular, equine.

Foliculogênese e ovulação na espécie equina

Resumo

O hipotálamo é considerado um ponto chave do controle reprodutivo; este órgão produz o hormônio GnRH, um decapeptídeo que é liberado no sistema portal hipotálamico-hipofisário para estimular a síntese e liberação das gonadotrofinas. As gonadotrofinas são responsáveis pela dinâmica folicular dos ovários, a produção de estrógenos, a ovulação e luteinização do corpo lúteo, em conjunto com outros hormônios e substâncias como o fator de crescimento parecido à insulina (IGF-1), e a proteína plasmática associada à prenha (PPAP-A), que controlam os principais sinais de comportamento do estro e os eventos que determinam a ovulação. Dentro dos processos de ovulação destacam-se a liberação da prostaglandina folicular que inicia a lise da parede do folículo; esta lise se associa com o aumento na enzima óxido nítrico sintetase endotelial (NOSe) que aumenta o fluxo sanguíneo do ovário ativando os péptidos vasoativos angiotensina II (Ang II), endotelina-1 (ET-1) e o péptido natriurético atrial (ANP). Esta revisão tem como objetivo ampliar o conhecimento dos acontecimentos que se relacionam com o ciclo estral, a dinâmica folicular e o processo da ovulação, para aplicá-los adequadamente ao manejo reprodutivo das éguas.

Palavras chave: IGF-1, PPAP-A, ovulação, folicular, equino.

INTRODUCCIÓN

El ciclo estral en los mamíferos es regulado por interacciones complejas entre el hipotálamo, la hipófisis, las gónadas y el endometrio (Souza, 2007; King et ál., 2010; Magee et ál., 2009). A diferencia de otros animales domésticos como la vaca, la especie equina posee una fase folicular altamente variable e inconsistente, presentándose la ovulación más próxima al final del estro que al inicio, dificultando así la predicción exacta del momento de la misma (Iroig et ál., 2004), el control y la manipulación del ciclo estral (Cuervo-Arango y Newcombe, 2008).

Recientemente, la yegua se ha utilizado como un modelo para el estudio del crecimiento y desarrollo folicular, principalmente en el entendimiento de las funciones intrafoliculares, la maduración del oocito y los procesos relacionados con el envejecimiento del tracto reproductivo (Carnevale, 2008), así como también los cambios hormonales y ultra-

sonográficos durante el periodo inter y perioovulatorio (Ginther et ál., 2008).

La base fisiológica que controla las acciones hormonales sobre la maduración folicular y ovulación en los equinos es similar a la de otros mamíferos, en donde la interacción de la GnRH hipotalámica con las gonadotropinas hipofisarias en respuesta a las hormonas gonadales como estrógeno, progesterona, inhibina, activina, entre otras, dictan las respuestas cíclicas de los ovarios (Gastal, 1999). Sin embargo, particularmente en la hembra equina, la elevación de la concentración sérica de la hormona luteinizante (LH), responsable de la ovulación, ocurre de forma lenta, alcanzando las máximas concentraciones plasmáticas 24 horas posteriores a la ovulación (Ginther, 2000).

La especie equina posee unas características propias que hacen necesario el conocimiento preciso de los acontecimientos que rodean a la formación y ovulación del oocito para que se pueda lograr el adecuado manejo reproductivo de las yeguas

(Souza, 2007). Por lo tanto, el objetivo de esta revisión de literatura es resaltar los principales acontecimientos del ciclo estral, dinámica folicular ovárica y el proceso de la ovulación en la yegua, lo que permite un mayor entendimiento en cuanto a su fisiología reproductiva.

CICLO ESTRAL DE LA YEGUA

El ciclo estral se define como el periodo entre dos ovulaciones seguidas, acompañadas por un estro y concentraciones plasmáticas de progesterona por debajo de 1 ng/ml, pudiéndose dividir en fase folicular (proceso ovulatorio) y luteal (diestro) (Hughes et ál., 1975).

La regularidad del ciclo estral está determinada por el balance de las hormonas producidas por la glándula pineal, el hipotálamo, la hipófisis, los ovarios y el endometrio (Ginther et ál., 2008; King et ál., 2010). El hipotálamo se considera como un punto clave de control reproductivo ya que los gonadotropos secretan la hormona GnRH, deca péptido que se libera en el sistema portal hipotalámico-hipofisiario para estimular la síntesis y la liberación de las gonadotropinas: hormona folículo-estimulante (FSH) y luteinizante (LH), las cuales son responsables de la dinámica folicular ovárica, la producción de estrógeno, la ovulación y la luteinización del cuerpo lúteo. En conjunto con otras hormonas como el factor de crecimiento parecido a la insulina (IGF-1), la proteína plasmática asociada a la preñez (PPAP-A) y otras (Aljarrah, 2004), controlan los principales signos externos de comportamiento del estro y los eventos que determinan la ovulación (Souza, 2007).

La fase folicular, también conocida como el estro, varía en su duración de 4 a 7 días en la yegua. Está acompañada de crecimiento folicular, selección, maduración y luego de la ovulación, presentándose

se una rápida disminución de las concentraciones plasmáticas de estrógeno. La fase luteal o diestro se considera como el periodo restante del ciclo estral, esta fase dura alrededor de 14 a 15 días, variando de acuerdo con la duración del estro. Se inicia con la ovulación, la formación del cuerpo lúteo y posteriormente la secreción de progesterona (Ginther, 1979). El incremento en la concentración sérica de LH ocurre de forma lenta, alcanzando una concentración máxima después de 24 horas de la ovulación (Ginther, 2000).

DINÁMICA FOLICULAR OVÁRICA

En las yeguas, así como en la mujer (Ginther et ál., 2005), el ciclo estral se caracteriza por presentar ondas de crecimiento folicular ovárico (Hughes et ál., 1972; Ginther et ál., 2008), con dos patrones típicos: onda folicular mayor, que posee folículos dominantes y subordinados, pudiendo normalmente iniciar en la segunda mitad del ciclo estral y termina con la posterior ovulación, y una onda folicular menor, en donde el folículo mayor no alcanza el diámetro necesario para promover la divergencia entre los futuros folículos subordinados, iniciándose al final del estro hasta el inicio del diestro (Ginther, 1979; Dinger y Noiles, 1984). Las ondas que emergen en la segunda mitad del ciclo estral y culminan con la ovulación se clasifican como foliculares primarias, y las ondas que surgen entre el final del ciclo y el inicio del diestro se denominan secundarias (Ginther, 1979; Gastal, 1999; Ginther et ál., 2008). El inicio de una onda de desarrollo folicular se estimula por el aumento en FSH (Dinger y Noiles, 1984; Gastal, 1999; Ginther et ál., 2008), que en la especie equina es la responsable del reclutamiento de los folículos con diámetro de aproximadamente 13 mm. Después de cuatro a cinco días, la concentración de FSH alcanza su valor máximo en sangre y los dos folículos mayores alcanzan un diámetro promedio de 19 a 22 mm. En este momento,

los folículos inician la divergencia en diámetro, que se caracteriza por la selección y el crecimiento continuo de un folículo mayor, que será considerado como dominante, reduciéndose el crecimiento en los folículos remanentes, tornándose como subordinados (Gastal, 1999).

La diferencia de diámetro entre los dos folículos mayores, al inicio de la divergencia, es equivalente a un periodo de crecimiento de aproximadamente 24 horas. Aparentemente, este es el momento en que el folículo más grande (dominante) establece el dominio en el proceso, antes que el folículo de tamaño inferior (secundario) pueda alcanzar un diámetro similar al dominante. En este instante, el futuro folículo dominante (FD) ejerce un papel primario de supresión de la concentración de FSH circulante (Ginther, 2000; Ginther et ál., 2003).

El crecimiento del FD, después del proceso de selección, es menos dependiente de FSH, cuya concentración se mantiene en niveles basales debido a la producción de estrógeno (E_2) e inhibina, que generan una retroalimentación negativa en la hipófisis. Sin embargo, el mantenimiento de una concentración mínima plasmática de FSH es esencial para su supervivencia, siendo que niveles por debajo del nivel basal predisponen a la atresia del folículo dominante (Mihm y Bleach, 2003).

Después del proceso de selección, el crecimiento y la actividad estrogénica del folículo son controlados por los pulsos de LH. El folículo seleccionado puede superar la dependencia a la FSH, llegando a ser extremadamente sensible a la pulsatilidad de la LH y adquiriendo receptores para esta hormona en las células de la granulosa, como también para la síntesis de enzimas esteroideogénicas (Rawlings et ál., 2003) que son fundamentales para la expresión génica de la enzima aromatasas (convierte androstenediona a estradiol) en las células de la granulosa (Mihm y Bleach, 2003).

La dependencia de concentraciones menores de FSH para mantener el crecimiento del FD coincide con la elevación en la concentración de estradiol, asociada a factores de crecimiento locales (Ginther, 2000) y a menores concentraciones de proteínas ligadoras del factor de crecimiento parecido a la insulina (IGFBP-2, 4 y 5), lo que permite que se dispongan mayores concentraciones intrafoliculares de IGF-1 libres (Granger, 1989), induciendo la expresión de receptores para la LH y regulando la actividad de la aromatasas (Fortune, 2003; Mihm y Bleach, 2003).

Los IGF, tipo 1 y 2, estimulan la actividad mitogénica y esteroideogénica de las células de la teca y de la granulosa por medio de mecanismos endocrinos, autocrinos y paracrinos (Voge et ál., 2004), amplificando los efectos endocrinos de la FSH y permitiendo al futuro FD una rápida regulación de la producción de estradiol. De esta manera, la supresión de la FSH circulante, por medio de la elevación en la concentración de estradiol, previene que los folículos subordinados adquieran la dominancia sin que haya interferencia en el desarrollo del folículo seleccionado para ovular (Fortune, 2003).

Asociado al IGF-1, los folículos dominantes presentan un aumento en las concentraciones de PAPP-A que promueven un rápido cambio en las concentraciones intrafoliculares de IGFBP, para degradar los dos subtipos de proteínas ligadoras (IGFBP-4 e 5) y, consecuentemente, llevan a un aumento en los niveles intrafoliculares de IGF-1 (Fortune et ál., 2004). Las concentraciones intrafoliculares de IGF-1 y de IGFBP-3 permanecen relativamente constantes durante el crecimiento folicular. Sin embargo, los niveles de IGFBP-2, 4 y 5 varían bastante, indicando que la biodisponibilidad de IGF-1 en el folículo es dictada por cambios en los niveles de IGFBP (Voge et ál., 2004).

La evaluación de los cambios temporales en las concentraciones de E_2 , IGF-1, IGFBP y PAPP-A en el fluido folicular sugiere que el aumento de esta última proteína es la diferencia bioquímica más precozmente detectable en el futuro folículo dominante, y que la selección folicular es el resultado de una serie de cambios que se inician con la expresión de la PAPP-A (Fortune et ál., 2003). Adicionalmente, en los equinos el estradiol, la IGF-1 libre, la activina-A y la inhibina-A comienzan a aumentar diferencialmente en el futuro folículo dominante cerca de un día antes de la divergencia folicular (Ginther et ál., 2003).

Se ha postulado que la selección del FD en la especie equina es dependiente de la asociación de cambios en las concentraciones de FSH y del crecimiento y el desarrollo folicular. La elevación en las concentraciones de LH circulante se encuentra cerca al momento de la divergencia y puede ejercer un papel en el crecimiento continuo del folículo mayor (Ginther et ál., 2003). No obstante, no se conoce si la LH empieza a ser utilizada por el folículo mayor antes, durante o después del inicio de la divergencia folicular. Algunos estudios sugieren que la LH no influye en el crecimiento del FD en los equinos, hasta que se inicia la divergencia (Gastal, 1999; Ginther, 2000).

EVENTOS HORMONALES EN LA OVULACIÓN

Después de la divergencia, en la especie equina, cuando el folículo alcanza el estado preovulatorio de ± 40 mm se presenta un aumento en la concentración plasmática de LH que desencadena una serie de eventos que comprometen la integridad del tejido ovárico llevando a la ovulación (Murdoch et ál., 1986; Ginther et ál., 2008). La ruptura local ovárica —el estigma— que se desarrolla de las células epiteliales en el folículo está en íntimo contacto con la superficie ovárica (Murdoch, 1996).

Un complejo estructural y de secreción, adicional a los otros cambios funcionales que ocurren en el ovario en el momento de la ovulación, está íntimamente asociado con los cambios locales en el flujo sanguíneo dentro de la pared del folículo preovulatorio. Estos eventos están asociados con las interacciones entre péptidos vasoactivos, prostaglandinas y esteroides que ejercen un papel clave en la cascada de la ovulación (Acosta y Miyamoto, 2004).

La liberación de prostaglandina folicular, que inicia el proceso de lisis de la pared del folículo, está asociada con el aumento de la enzima óxido nítrico sintetasa endotelial (NOSe) que aumenta el flujo sanguíneo ovárico y, consecuentemente, activa los péptidos vasoactivos: angiotensina II (Ang II), endotelina-1 (ET-1) y el péptido natriurético atrial (ANP), que promueven la modulación del tono vascular de la circulación sistémica y alteran el flujo sanguíneo folicular contribuyendo al proceso de la ovulación (Acosta et ál., 1999).

El hecho de que el ET-1 estimule la liberación de ANP, y este estimule la liberación de angiotensina II, indica que estos péptidos actúan localmente y semejante a una reacción en cadena. Esta cascada puede mediar la acción de la LH para acelerar la producción de prostaglandinas durante el periodo preovulatorio (Acosta et ál., 1999). Sin embargo, en los estudios *in vivo* efectuados en bovinos, se observa que la Ang II inhibe directamente la liberación de ANP en la capa de células de la teca de los folículos maduros. Esto implica que la Ang II en el líquido extracelular en las células de la teca modula la producción local de ANP y ET-1 en los folículos de bovinos. De esta forma, la ET-1 y el ANP pueden ejercer un papel permisivo en la modulación de la producción local ovárica de Ang II (Acosta y Miyamoto, 2004).

En respuesta al incremento en la LH, ocurre una secreción concomitante de los péptidos vasoactivos,

de la uroquinasa y del activador de plasminógeno que activan las colagenasas latentes y estimulan la liberación del factor de necrosis tumoral tipo alfa (TNF- α) el cual, progresivamente, induce la expresión génica de las metaloproteinasas, llevando a la apoptosis y a la respuesta inflamatoria (Murdoch y McDonnell, 2002).

La liberación de colagenasa y la muerte celular ocurre antes de la formación del estigma y de la ruptura ovárica (Murdoch, 1996). Para que ocurra la ruptura del colágeno es necesario que las células de la teca, que son dependientes de 9-ceto-PGE₂-reductasa, conviertan la PGE₂ en PGF_{2 α} (Weems et ál., 2006). Este proceso induce la liberación del TNF- α que puede promover la transducción de señales apoptóticas que resultan en la muerte celular programada, caracterizada por la activación de endonucleasas, fragmentación internucleosomal del ADN, y la condensación nuclear y citoplasmática (Murdoch et ál., 1997).

Esta oleada apoptótica inicial es sucedida por necrosis (degeneración indiscriminada de ADN y lisis celular), extravasación de células sanguíneas, colapso vascular, isquemia local y, consecuentemente, la ruptura de los folículos, los cuales pierden la superficie ovárica. Las colagenasas, inducidas por el TNF- α , desorganizan la red de fibras de la teca y de la túnica albugínea (vía matriz metaloproteinasas 1, MMP-1) promoviendo la digestión de la base de la membrana que sostiene el epitelio ovárico y de la granulosa (vía MMP-2), además, la proteólisis y la remoción celular causan un progresivo estrechamiento de la pared ovárica, con la consecuente formación del estigma y la ruptura folicular (Murdoch y McDonnell, 2002).

Los estudios realizados para demostrar la participación de los diferentes sistemas en la ruptura

del folículo preovulatorio (Murdoch, 1996; Murdoch et ál., 1997; Acosta et ál., 1999; Murdoch y McDonnell, 2002; Acosta y Miyamoto, 2004) no implican a la yegua como modelo experimental. A pesar de que este animal presenta una inversión en las capas del estroma ovárico, la cadena de eventos debe ser similar, ya que el punto principal de la acción de los péptidos vasoactivos, las prostaglandinas, así como el TNF- α , son las células epiteliales del folículo que entran en contacto íntimo con la superficie ovárica, que en la yegua es la fosa de la ovulación.

Aunque se conoce mucho acerca del proceso de la ovulación y la dinámica del desarrollo folicular ovárico y los cambios funcionales en la especie equina, algunas cuestiones centrales de la disfunción en la maduración del oocito, como aneuploidías, siguen sin respuesta. Sin embargo, una de las características más fascinantes del crecimiento folicular y la ovulación es la redundancia en los sistemas que aseguran el funcionamiento apropiado del ovario, lo que es realizado por varios factores que interactúan con las gonadotropinas y las células foliculares en las diversas etapas de la diferenciación, nunca actuando por sí solos. Se pueden destacar algunas hormonas como grelina, leptina, insulina, IGF-1, GH, orexina, neuropeptídeo, entre otras, que pueden actuar directamente en el folículo alterando la calidad del líquido folicular, e indirectamente, modificando la condición sistémica. Por tanto, el médico veterinario necesita cada vez más un conocimiento detallado de la dinámica fisiológica ovárica para que pueda obtener mejores resultados en cuanto al manejo reproductivo de esta especie y así poder contribuir con el incremento de la eficiencia reproductiva para mejorar las tasas de fertilidad en los diferentes criaderos a nivel nacional e internacional.

REFERENCIAS

- Acosta, T. J., Berisha, B., Ozawa, T., Sato, K. y Schams, K. (1999). Evidence for a local endothelin-angiotensin-atrial natriuretic peptide system in bovine mature follicles in vitro: effects on steroid hormones and prostaglandin secretion. *Biology of Reproduction*, 61, 1419-1425.
- Acosta, T. J. y Miyamoto, A. (2004). Vascular control of ovarian function: ovulation, corpus luteum formation and regression. *Animal Reproduction Science*, 82-83, 127-140.
- Aljarrah, A. H. (2004). Methods to induce earlier onset of cyclicity in transitional mares. Thesis Graduate, Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College, Louisiana, USA.
- Carnevale, E. M. (2008). The mare model for follicular maturation and reproductive aging in the woman. *Theriogenology*, 69, 23-30.
- Cuervo-Arango, J. y Newcombe, J. R. (2008). Repeatability of preovulatory follicular diameter and uterine edema pattern in two consecutive cycles in the mare and how they are influenced by ovulation inductors. *Theriogenology*, 69, 681-687.
- Dinger, J. E. y Noiles, E. E. (1984). Ovarian activity in synchronized mares following administration of follicles stimulating hormone. *Animal Reproduction Science*, 7, 511-516.
- Fortune, J. E. (2003). The early stages of follicular development: activation of primordial follicles and growth of preantral follicles. *Animal Reproduction Science*, 78 (3-4), 135-163.
- Fortune, J. E., Rivers, G. M. y Yang, M. Y. (2004). Follicular development: The role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Animal Reproduction Science*, 82-83, 109-126.
- Gastal, E. L. (1999). Selection of the dominant follicle in mares: role of follicle – diameter differences, gonadotropins, and estradiol. Thesis (Ph.D.), University of Wisconsin, Madison, WI, USA.
- Ginther, O. (1979). *Reproductive biology of mare. Basic and applied aspects. Equiservices, Crodd Plains*. Wisconsin: Mc Maughton and Gunn.
- Ginther, O. J. (2000). Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Animal Reproduction Science*, 60-61, 61-79.
- Ginther, O. J., Beg, M. A., Donadeu, F. X. y Bergfelt, D. R. (2003). Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. *Animal Reproduction Science*, 78, 239-257.
- Ginther, O. J. et ál. (2005). Systemic concentrations of hormones during the development of follicular waves in mares and women: a comparative study. *Reproduction*, 130, 379-388.
- Ginther, O. J., Gastal, E. L., Rodrigues, B. L., Gastal, M. O. y Beeg, M. A. (2008). Follicle diameters and hormone concentrations in the development of single versus double ovulations in mares. *Theriogenology*, 69, 583-590.
- Granger, A. L., Wyatt, W. E., Craig, W. N., Thompson, D. L. y Hembry, F. G. (1989). Effects of breed wintering diet on growth, puberty and plasma concentrations of growth hormone and insulin-like growth factor-1 in heifers. *Domestic Animal Endocrinology*, 6, 253-262.
- Hughes, J. P., Stabenfeldt, G. H. y Evans, J. W. (1972). Estrous cycle and ovulation in the mare. *Journal American Veterinary Medical Association*, 161, 1367-1374.
- Hughes, J. P., Stabenfeldt, G. H. y Evans, J. W. (1975). The oestrous cycle of the mare. *Journal of Reproduction Fertility, Supplement*, 23, 161-166.
- Iroig, J. M., Muñoz, F., Piedrahíta, J. y Quintero-Moreno, A. (2004). Prediction of the day of ovulation in mares through physiological parameters measured during estrous. *Revista Científica (en línea)*, 14, 1-8. Recuperado de <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/959/95911219008.pdf>.
- King, S. S., Douglas, B. L., Roser, J. F., Silva, K. L. y Jones, K. L. (2010). Differential luteolytic function between the physiological breeding season, autumn transition and persistent winter cyclicity in the mare. *Animal Reproduction Science*, 117, 232-240.
- Magee, C. et ál. (2009). Biological and anatomical evidence for kisspeptin regulation of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis of estrous horses mares. *Endocrinology*, 150, 2813-2821.

- Mihm, M. y Bleach, E. C. L. (2003). Endocrine regulation of ovarian antral follicle development in cattle. *Animal Reproduction Science*, 78, 217-237.
- Murdoch, W. J., Peterson, T. A., van Kirk, E. A., Vincent, D. L. e Inskeep, E. K. (1989). Interactive roles of progesterone, prostaglandins, and collagenase in the ovulatory mechanism of the ewe. *Biology of Reproduction*, 35, 1187-1194.
- Murdoch, W. J. (1996). Differential effects of indomethacin on the sheep ovary: Prostaglandin biosynthesis, intracellular calcium, apoptosis and ovulation. *Prostaglandins*, 52, 497-506.
- Murdoch, W.J., Colgin, D. C. y Ellis, J. A. (1997). Role of tumor necrosis factor- α in the ovulatory mechanism of ewes. *Journal of Animal Science*, 75, 1601-1605.
- Murdoch, W. J. y McDonnel, A. C. (2002). Roles of the ovarian surface epithelium in ovulation and Carcinogenesis. *Reproduction*, 123, 743-750.
- Rawlings, N. C., Evans, A. C. O., Honaramooz, A. y Bartlewski, P. M. (2003). Antral follicle growth and endocrine changes in prepubertal cattle, sheep and goats. *Animal Reproduction Science*, 78, 259-270.
- Souza, F. A. (2007). *Taxa de concepção de éguas cobertas 12 ou 24 horas após a ovulação*. Dissertação de Mestrado, UFMG, Belo Horizonte, Brasil.
- Voge, J., Aad, P. Y., Santiago, C. A. T., Goad, D. W., Malayer, J. R. y Spicer, L. J. (2004). Effect of insulin-like growth factors (IGFs), FSH, and leptin on IGF-binding-protein mRNA expression in bovine granulosa and theca cells: quantitative detection by real-time PCR. *Peptides*, 25, 2195-2203.
- Weems, C. W., Weems, Y. S. y Randel, R. D. (2006). Prostaglandins and reproduction in female farm animals. *Veterinary Journal*, 171, 206-228.