

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia



**“Relación entre los Estadios Foliculares y los Niveles de
Estradiol Intrafolicular en Alpacas
Vicugna Pacos”**

Tesis para optar el Título Profesional de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Miguel Ángel Lázaro Asmat

Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia

Lima – Perú

2016

AGRADECIMIENTOS

- A mi familia, por el apoyo incondicional brindado durante la duración de la carrera y los años posteriores.
- A mis profesores de pregrado, quienes con sus retos impuestos durante toda la carrera, me enseñaron a valorar cada una de las lecciones, las cuales me sirvieron para ingresar al mundo laboral con conocimientos valiosos.
- A mis compañeros de estudios, con quienes tuve vivencias muy gratas; y si bien, cada uno hizo su camino para desarrollarse profesionalmente, estarán presentes en mis memorias por siempre.
- A mi amiga Grace Kelly, con quien nos apoyamos el uno al otro en las buenas y en las malas. Agradezco la amistad incondicional y sólida que tenemos y tendremos por siempre. Muchas gracias mi gran amiga.
- A la Dra. Luisa y Dra. Galy, con quienes el proyecto no hubiese sido un éxito. El proyecto fue una etapa muy valiosa en mi vida ya que aprendí a trabajar en equipo para lograr los objetivos planteados.

ABSTRACT

The alpacas (*Vicugna pacos*) are animals with a complex reproduction, due to their poor fertility and low rate birth. Because of this, searching for new techniques to improve the productivity of Alpacas is constantly studied. The purpose of this research is to establish connections between hormonal concentrations of intrafollicular estradiol, measured in nanograms per millilitre (ng/ml.) and different follicular sizes during growth, selection, dominance and atresia in the follicular development of the alpaca's ovary. In order to achieve this, alpacas with proven ovarian activity were used (females with more than one birth). The alpacas were subject to echography monitoring of their ovaries to determine the condition of their follicular waves, the ovaries subtracted by laparotomy were subject to puncture for extracting follicular fluid to determine the intrafollicular levels of estradiol through radioimmunoassay. Results demonstrate that concentration of intrafollicular estradiol increases according to the follicular development, and decreases significantly in atresia condition. Therefore concentration of estradiol at the beginning of the wave is 13.2 ± 11.3 ng/ml, during selection 108.4 ± 54 ng/ml, during dominance between 234 – 566 ng/ml, while in atresia 4.2 ng/ml. Being ideal for riding time when the intrafollicular concentration of estradiol is high in a dominant follicle.

Key words: estradiol, alpacas, echography, radioimmunoassay

RESUMEN

Las alpacas (*Vicugna Pacos*) son animales reproductivamente complejas, ya que tienen baja fertilidad y baja tasa de parición, es por ello el interés de desarrollar nuevas técnicas que ayuden a aumentar la productividad de las alpacas. En el presente trabajo se busca establecer la correlación entre las concentraciones hormonales de estradiol intrafolicular, medidos en nanogramos por mililitro (ng. /ml) y los diferentes tamaños foliculares en las fases de crecimiento, selección, dominancia y atresia en el desarrollo folicular del ovario de la alpaca. Para ello se utilizaron alpacas con actividad ovárica comprobada (hembras con más de 1 parto). Las alpacas fueron sometidas a monitoreo ecográfico de los ovarios para determinar el estado de las ondas foliculares, los ovarios extraídos vía laparotomía fueron sometidos a punción para la extracción del fluido folicular para determinar los niveles intrafoliculares de estradiol mediante radio inmuno ensayo. Los resultados comprueban que la concentración de estradiol intrafolicular aumenta de acuerdo al crecimiento del folículo, y decrece significativamente al entrar al estado de atresia. Es así que la concentración de estradiol intrafolicular durante la fase de crecimiento es de 13.2 ± 11.3 ng/ml, durante selección de 108.4 ± 54 ng/ml, durante la fase de dominancia entre 234 y 566 ng/ml, mientras que en la atresia de 4.2 ± 2.8 ng/ml. Siendo el momento ideal para la monta, cuando la concentración de estradiol intrafolicular se encuentra alto en un folículo dominante

Palabras claves: estradiol, alpacas, monitoreo ecográfico, radioinmunoensayo

INTRODUCCIÓN

Los camélidos sudamericanos son una especie animal que logran ovular mediante la copula o por la administración de hormonas como GnRH y HCG, también llamadas de ovulación inducida (Cervantes, 2007; Tibary *et al.* 2015); por lo que no tienen un ciclo estral establecido y mantienen ondas foliculares continuas donde se observa un constante crecimiento, maduración y atresia de los folículos, donde luego de regresionar, se da inicio a una nueva onda folicular sin la presencia de la ovulación. Este proceso se da de forma continua hasta que se da la copula (Riveros *et al.*, 2010; Ferrer *et al.* 2002; Gigli *et al.* 2006; Vaughan y Tibary, 2006). Los ovarios pueden desarrollar una onda folicular intercalando ambos ovarios sin que este afecte el desarrollo del folículo en el otro ovario, pudiendo mostrarse la aceptación del macho en cualquier época del año. Una vez que se presenta la ovulación, con la consecuente presentación del cuerpo lúteo, los niveles de progesterona se encontraran dominando, influenciando en el comportamiento de la hembra, lo que se demuestra como rechazo a la monta (Bravo, 2002).

Las ondas foliculares en los Camélidos Sudamericanos tienen una duración promedio de 12 - 14 días, donde la fase de crecimiento tiene lugar a 4 - 5 días, la fase de dominancia 4 - 5 días y la fase de regresión o atresia que dura 3 - 4 días (Sumar, 2002; Bravo, 2002, Gigli *et al.*, 2006; Vaughan y Tibary, 2006). En llamas, se ha reportado la duración de las fases de crecimiento, maduración y regresión de 4,8, 5 y 4 días respectivamente, siendo 14 días la duración de la onda folicular. La fase de crecimiento es de 4 - 5 días, maduración 4 -5 días y regresión en 3 - 4 días en llamas y alpacas. Una vez que el folículo se encuentra camino hacia la regresión, un nuevo folículo se desarrolla y se vuelve dominante, este proceso se puede dar del mismo lado o en el ovario contralateral (Bravo, 2002). La duración de la onda folicular está influenciada por especie animal, clima, locación geográfica (Vaughan y Tibary, 2006).

En múltiples estudios se ha determinado que la cópula es importante para desencadenar la ovulación en los camélidos sudamericanos, ya que el plasma seminal contiene un factor potente que desencadena la reacción que permite la liberación de grandes cantidades de LH (Bravo, 2002; Gigli *et al.*, 2006; Tibary *et al.*, 2015). Existe otros factores de gran importancia para el desarrollo del folículo y ovulación, el cual está ligado al tamaño del folículo, donde folículos menores de 5 mm no son capaces de desarrollarse, debido a que no cuentan con la cantidad suficiente de receptores para FSH/LH los cuales permite la estimulación por sus respectivas hormonas blanco, sin embargo se ha observado que esto no impide que las hembras copulen teniendo folículos de diferentes diámetros (Bravo, 2002; Gigli *et al.*, 2006, Lenz *et al.*, 2007). Se ha podido observar que la ovulación en la alpaca se produce alrededor de las 24-26 horas luego de la cópula (Skidmore, 2005; Gigli *et al.*, 2006) y alrededor de las 42 horas en la llama (Gigli *et al.*, 2006). Pero también se ha registrado las ovulaciones espontaneas en un 5% de las hembras evaluadas (Bravo, 2002; Vaughan *et al.*, 2004; Gigli *et al.*, 2006).

La actividad ovárica está regulada por factores externos e internos (Rosen *et al.*, 2009). El hipotálamo libera GnRH el cual actúa sobre la glándula pituitaria anterior para la liberación de FSH (hormona folículo estimulante) que permiten la división celular de la capa de granulosa y formación de la cavidad antral, además de ser un estímulo para la expresión de receptores para LH (hormona luteinizante) la cual permite la liberación del ovocito (Donadeu y Ginther, 2002; Gigli *et al.*, 2006). Cuando el folículo se va diferenciando, las concentraciones de FSH disminuyen debido a la producción de inhibina por parte del folículo que está en proceso de maduración (Donadeu y Ginther, 2002). La alta producción de inhibina producida por el folículo dominante actúa localmente inhibiendo el desarrollo de los folículos subordinados y en forma sistémica, por un mecanismo de retroalimentación negativo a la FSH a nivel de la hipófisis.

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 presentes en las células de la granulosa y células de la teca del folículo preovulatorio (Gigli *et al.*, 2006). La expresión de los receptores para LH (LHr) es detectado en las células de la granulosa de folículos de 8 mm y aumenta a medida que el folículo también desarrolla. No se ha encontrado LHr en folículos menores de 8 mm o subordinados debido a que el folículo en desarrollo es dependiente de FSH y cuenta con receptores para FSH (FSHr), quien durante su desarrollo va adquiriendo dependencia por LH por lo que se expresa los LHr (Beg *et al.*, 2002; Beg y Ginther, 2006; Gigli *et al.*, 2006)

Se han identificado otros factores que influyen sobre la calidad del ovocito como el IGF (siglas en inglés: Insulin like growth factor), cuya estructura es similar a la insulina y son producidos por las células de la granulosa, conformado por dos ligandos: IGF-I y IGF-II (Armstrong y Webb, 1997; Glister *et al.*, 2001; Gigli *et al.*, 2006; Lenz *et al.*, 2007). Especialmente IGF-I es la encargada de la proliferación de las células de granulosa y la producción de estradiol (Beg y Ginther, 2006; Gigli *et al.*, 2006; Lenz *et al.*, 2007). Además, IGF-I aumenta la sensibilidad de las células de granulosa hacia FSH incrementando la secreción de inhibina-A, activina-A y folistatina y aumentando la estimulación del LH y produciendo síntesis de andrógenos por parte de las células de la teca (Beg y Ginther, 2006; Lenz *et al.*, 2007). Además, se sabe que existen 6 proteínas que regulan la acción de las IGF (IGFBP) las cuales tienen un rol competitivo sobre los receptores de los IGF (Gigli *et al.*, 2006; Lenz *et al.*, 2007).

Las hormonas tales como estradiol, progesterona y prolactina han sido consideradas como marcadores potenciales de la calidad ovocitaria (Kably *et al.*, 2002, 2005) donde el estradiol toma un papel importante. La formación del estradiol inicia a partir del colesterol el cual es convertido a androstenediona y luego a estradiol mediante la enzima aromatasa durante el proceso denominado aromatización que se lleva a cabo en las células de la granulosa (Beg y

Ginther, 2006; Gigli *et al.*, 2006; Jamnongjit y Hammes, 2006). Cualquier falla a nivel de este sistema estaría afectando la producción de estradiol y tendría repercusiones sobre la salud de los ovocitos (Carmona *et al.*, 2010; Leroy *et al.*, 2004; Teissier *et al.*, 2000). Es así que la aromatización y las concentraciones de estrógenos son fundamentales para la madurez ovocitaria (Kably *et al.*, 2002) y aquellos que pueden convertir más andrógenos a estradiol son los más saludables (Andersen, 1993).

La investigación está dirigida a determinar las concentraciones de estradiol intrafolicular (ng. / ml.), y su relación con los diferentes fases durante la onda folicular.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Lugar de Estudio

El Proyecto fue realizado en la Universidad Peruana Cayetano Heredia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FAVEZ - UPCH):

- Los animales fueron mantenidos en la estación experimental de Lurín.
- El proceso quirúrgico para la obtención y procesamientos de muestras, se realizaron en el Laboratorio de Reproducción Animal FAVEZ -UPCH.
- La evaluación de las muestras de licor folicular a través el programa RIA PC fue realizado en el laboratorio del Instituto de altura UPCH.

2. Selección de Animales

Los animales procedentes de Huancavelica y Cerro de Pasco fueron mantenidos en la estación experimental de Lurín de la FAVEZ – UPCH. La edad promedio de las alpacas utilizadas fue de 2 a 4 años. La selección de las alpacas fue en base a su estado reproductivo, usando hembras vacías con más de 1 parto, con actividad ovárica comprobada o con 15 días de descanso post muerte embrionaria, aborto o muerte de la cría.

3. Manejo de Animales

Las alpacas tuvieron un mes de adaptación, donde se hizo un tratamiento preventivo con antibióticos (enrofloxaxina 1 ml /10 kg PV) y antiparasitarios (Ivermectina: 1 ml/ 10 Kg Pv y albendazole, 5 ml) corte de uñas y esquila. La alimentación fue en base de una formula balanceada y ensilaje, además de agua *Ad libitum*. Fueron debidamente identificadas con aretes

numerados colocados a nivel de la oreja. Para guardar un registro de cada una de ellas se usaron Historias Clínicas donde se registró el seguimiento ecográfico de la onda ovárica así como las ocurrencias durante el periodo de estudio.

4. Diseño de Estudio

Las alpacas fueron sometidas a monitoreo ecográfico de los ovarios en grupos de 10 animales escogidos al azar, previa evaluación donde se clasificó a los animales que mostraban un estado de onda folicular similares. Los animales a intervenir quirúrgicamente fueron escogidos al azar y los ovarios fueron extraídos vía laparotomía. Las muestras fueron clasificadas según el tamaño de los folículos durante la onda folicular y se hizo la colección del fluido folicular para determinar los niveles intrafoliculares de estradiol mediante radioinmunoensayo.

a. Monitoreo de la Actividad Ovárica

Esta actividad fue realizada en la estación experimental de Lurín de FAVEZ – UPCH, en un ambiente oscuro. El crecimiento folicular en los animales fueron monitoreados en forma interdiaria mediante ultrasonografía haciendo uso de un ecógrafo marca ALOKA SSD - 500 con un transductor transrectal de 7.5 MHZ. Para el monitoreo se hizo grupos de 10 animales y se monitoreó las ondas foliculares, desde que estaban en la fase de crecimiento hasta la fase de atresia.

b. Obtención de las muestras

Los ovarios que presentaron folículos correspondientes a la clase propia al estudio fueron extraídos. La técnica quirúrgica consistió en laparotomía paramedial y ovariectomía. El protocolo de anestesia consistió en xilacina (1 mg/ kg PV IM), tramadol (1.0 mg/kg PV IM), y

ketamina 10% (5 mg/ kg PV EV). La alpaca a intervenir fue colocada en de cúbito lateral y la incisión se realizó medial a la tuberosidad coxal entre la región inguinal y púbica del lado del ovario a extraer. Al término de la cirugía se realizó un tratamiento post operatorio con penicilina – estreptomicina, y una solución de violeta de genciana con piretroides (Curabichera, Spray).

c. Colección de Muestras

Una vez extraído el ovario, fue recepcionado en Placas Petri estériles y fue llevado a un área de trabajo en condiciones de esterilidad para no contaminar la muestra. Se procedió con la aspiración del licor folicular haciendo uso de jeringas estériles de 1ml y agujas estériles de 21 X 1''

El licor folicular fue colocado en placas Petri estériles y mediante el uso de un estereoscopio, se procedió a extraer el Complejo Cúmulo Ovocito (CCO). El licor sin CCO fue colocado en un microvial estéril debidamente identificado y fue centrifugado por 10 minutos a 2.5 rpm. El sobrenadante fue almacenado a temperatura de congelación a -70°C hasta el momento del análisis de dosaje Hormonal.

d. Clasificación de Muestras.

Las muestras de licor intrafolicular obtenidas se clasificaron según el diámetro del folículo al que pertenecían, de la siguiente manera:

- A. G1 (n=5) Fase Crecimiento – folículos sin diferencia de diámetro (2 – 4 mm)
- B. G2 (n=6) Fase Selección – 5 – 6 mm
- C. G3 (n=8) Fase Dominancia I – folículo de 7 – 8 mm
- D. G4 (n=5) Fase Dominancia II – folículo de 9 – 10 mm

E. G5 (n=6) Fase Dominancia III – folículo >10 mm

F. G6 (n=6) Fase Atresia – folículo en proceso de atresia.

Los folículos fueron medidos con el uso de una regla milimétrica la cual fue colocada debajo de la placa petri donde se recepcionó el ovario.

Las alpacas que cumplieron su función en el proyecto fueron tratadas y posteriormente donadas a diferentes instituciones sin dañar su bienestar y salud.

e. Dosaje Hormonal

Se determinó los niveles de estradiol mediante la técnica de radioinmunoensayo RIA con los kits comerciales para Estradiol DIA SOURCE, con estándares de 0, 18, 60, 150, 455, 1630, 3344 pg/ml.

Los tubos marcados se rotularon por duplicado para cada uno de los estándares, muestras y controles. En cada tubo se vertió 1000 μ l de E2 marcado con I125, incluyendo los tubos no recubiertos a las Cuentas Totales. Se incubo por 3 horas a 37°C en baño María. Se hizo la decantación y el lavado de los tubos con 3 ml de Solución de lavado de trabajo (excepto los de Cuentas Totales) y se volvió a decantar. Finalmente se midió la actividad de cada tubo durante 60 segundos en un Contador Gamma.

Los datos obtenidos fueron procesados mediante el programa RIA PC para obtener los resultados reales de las concentraciones de estradiol.

5. Análisis estadístico

Las variables obtenidas son las concentraciones de estradiol las que están expresadas en ng/ml y a las cuales se les aplicó corrección logarítmica, y estos datos fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA) con diferencia de medias por medio de la prueba de Tukey, teniendo como factores de variación las fases de la onda folicular.

RESULTADOS

Se investigaron 36 ondas foliculares que se encontraron en los diferentes estadios de la onda folicular, es decir, folículos en crecimiento (desde 2 mm), folículos en selección (5 – 6 mm), folículos dominantes (7 – 10 mm) y folículos atrésicos.

Tabla 1: Concentración intrafolicular de Estradiol en diferentes fases de la onda folicular de alpacas.

Fase folicular	Diámetro Folicular (mm)	Número de muestras (Folículos)	Estradiol (ng/ml) (X ± ES)
Crecimiento	2 - 4	5	13.2 ± 11.3 ^a
selección	5 - 6	6	108.4 ± 54 ^{bc}
Dominancia	7 - 8	8	566.9 ± 269.5 ^c
	9 - 10	5	367.5 ± 189.9 ^{bc}
	> 10	6	234.8 ± 54.3 ^{bc}
Atresia		6	4.2 ± 2.8 ^a

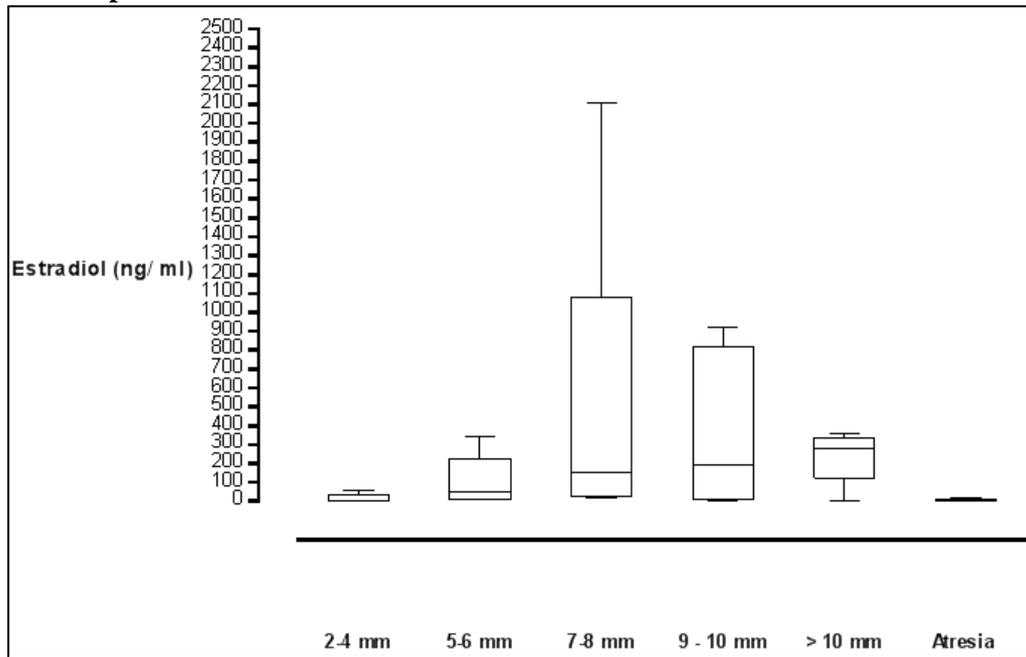
* Letras diferentes representa diferencia estadística significativa.

Los resultados mostrados en la tabla 1 indican diferencia significativa en los niveles intrafoliculares de estradiol entre los diferentes tamaños foliculares, donde los dominantes (7 – 10 mm) tienen niveles significativamente más altos de estradiol que los folículos atrésicos y en crecimiento.

Se observó que los folículos atrésicos mostraron los niveles más bajos de estradiol intrafolicular respecto a los que se encuentra en crecimiento, selección y dominancia, presumiblemente a que estos folículos perdieron toda capacidad de producir estradiol.

En el gráfico 1, se puede observar como el contenido de estradiol intrafolicular presenta la tendencia a conforme el tamaño del folículo crece y va decreciendo conforme el folículo va entrando a un estado de atresia.

Gráfico 1: Variación de estradiol (ng/ml) en las diferentes fases de la onda folicular en alpacas



DISCUSIÓN

El licor folicular está aislado del medio externo, por lo que ésta característica permite que los folículos del mismo ovario sean independientes, en donde se puede encontrar diferentes concentraciones hormonales en los folículos de un mismo ovario, según lo descrito por Andersen y Byslov (2006) y Carmona *et al.* (2010); y que fue demostrado con el presente ensayo. Así mismo folículos del mismo diámetro y del mismo espécimen, pueden generar folículos de diferentes característica, donde no todos contienen folículos maduros o folículos aptos para la fecundación (Carmona *et al.*, 2010).

Se sabe que el líquido folicular provee un microambiente importante para el desarrollo de los ovocitos y está formado, principalmente, por constituyente del plasma sanguíneo que atraviesan la barrera sanguínea del folículo y por compuestos de la actividad secretora de las células de la granulosa y teca. (Rodgers e Irving, 2010; Revelli *et al.*, 2009; Kably *et al.*, 2002, 2005; Pacheco y Coila, 2007), por lo que cualquier cambio en la salud y nutrición del animal podría estar influenciando la adecuada maduración de los ovocitos (Leroy *et al.*, 2004). Se tiene varias hipótesis de cómo se forma el antro folicular, entre ellas la formación de sustancias generan un poder osmótico: proteínas, hialuronan, glicosaminoglucoanos, bomba de Na-K ATPasa, mecanismos de transporte trans-celular vía acuaporinas, entre otros (Rodgers e Irving, 2010). Cualquier mecanismo de acción que permita la formación del antro folicular es de gran importancia ya que el correcto funcionamiento del sistema va a permitir la correcta maduración de los folículos y en consecuencia del ovocito.

La relación entre tamaño folicular y la concentración de estradiol en alpacas está de acuerdo a lo anteriormente reportado en otras especies, ovinos (Carson *et al.*, 1981), vacas (De Wit *et al.*, 2000; Fortune *et al.*, 2004) y yeguas (Gastal *et al.*, 1999; Ginther *et al.*, 2002). En

donde se sabe que el estradiol promueve el crecimiento del folículo y la proliferación de las células de la granulosa, mejora la actividad de la aromatasa e incrementa sensibilidad de las células de la granulosa a la FSH y LH por que se potencializa la expresión de los receptores para FSH y LH. (Beg *et al.*, 2002, 2003; Donadeu y Ginther, 2002). Es por ello que sólo los folículos mayores de 5 mm tiene una respuesta ante el estímulo ovulatorio representado por la descarga preovulatoria de LH luego de la cópula, mientras que los de menor calibre no tienen cantidad de estradiol suficiente para estimular la producción de receptores y con esto aumentar la sensibilidad a LH (Acosta *et al.*, 2005; Gigli *et al.*, 2006; Vaughan y Tibary, 2006), por ende, no pueden ovular.

Para que el folículo pueda desarrollarse, es necesario que este obtenga receptores para FSH, el cual es fundamental para el desarrollo del folículo y consiga el desarrollo de las células de la teca y de la granulosa (Gligli *et al.*, 2006). El adecuado desarrollo de las células de la granulosa permitirá la producción de estradiol, mediante la conversión del colesterol por medio de la enzima aromatasa (Zelevnik, 2004). Es por ello que al crecer, el folículo va adquiriendo mayor capacidad para la fabricación de estradiol y por consecuente mayores niveles durante las evaluaciones, tal cual se demostró en el presente ensayo, donde las concentraciones de estradiol tiene relación directa con el crecimiento del folículo. Según lo descrito por Revelli *et al.* (2009) y Kojima *et al.* (2003), un medio intrafolicular con predominancia estrogénica está asociado con un buen crecimiento folicular y reducción de la atresia del folículo. La producción de los estrógenos es fundamental para el desarrollo del folículo, al ser los encargados de estimular la liberación de otros mediadores químicos que estimularan el desarrollo y maduración del folículo y ovocito. (Jamnongjit, y Hammes, 2006).

Tal como lo mencionó Fortune *et al.* (2004), los folículos dominantes tienen mayor concentración de estradiol que los subordinados y los atrésicos, y los resultados demostraron lo expresado, donde se pudo observar diferencia significativa entre ambos grupos de folículos. Los

folículos dominantes adquieren receptores para LH, mientras que los receptores para FSH disminuyen, permitiéndoles continuar con su desarrollo, mediante la reducción de la dependencia a FSH y aumentando la sensibilidad a LH. Además, conforme el folículo crece, se empieza a producir inhibina, la cual impide la producción de FSH, haciendo que los folículos subordinados entren en estado de atresia, mientras que el folículo dominante sigue desarrollándose, continuando así su producción de estradiol. A la vez, los folículos van adquiriendo mayor irrigación sanguínea, por lo que el medio del ovocito se enriquece de nutrientes (Komar *et al.*, 2001; Kably *et al.*, 2002).

Como se observa en los resultados (Tabla 1) los folículos atrésicos muestran cantidad de estradiol inferior a los folículos dominantes, esto debido a que el folículo va perdiendo las características para la producción de estradiol, esto fue anteriormente establecido para otras especies como vacas (Ginther *et al.*, 2002), yeguas (Ginther *et al.*, 2002; Doneadou y Ginther, 2002) y humanos (Schneyer *et al.*, 2000). En los folículos atrésicos se pudo observar que han perdido sus propiedades protectoras, como las células de la granulosa que lo cubren (Salcedo, 2016), así mismo el estradiol se encuentra disminuido, esto debido a que el folículo pierde la capacidad de producción del estradiol generado por las células de la teca y granulosa.

CONCLUSIONES

- Los folículos dominantes son los que tienen niveles más altos de estradiol en relación a los folículos en crecimiento y en atresia.

LITERATURA CITADA

Acosta T, Hayashi K, Matsui M, Miyamoto A. 2005. Changes in follicular vascularity during the first follicular wave in lactating cows. *J. reprod and Development* 51: 273- 280.

Armstrong D, Webb R. 1997. Ovarian follicular dominance: the role of intraovarian growth factors and novel proteins. *Reviere of Reproduction* 2: 139 – 146.

Andersen C. 1993. Characteristics Of Human Follicular Fluid Associated With Successful Conception After In Vitro Fertilization. *J Cli Endocry Metab* 77: 1227 – 1234.

Andersen C y Byslov A. 2006. Estradiol and Regulation Of Antimûmerian Hormone, Inhibin A, And Inhibin B Secretion: Analysis Of Small Antral And Preovulatory Human Follicles´ Fluid. *J Clin Endocrinol Metab* 91: 4064 – 4069.

Beg M, Bergfelt D, Kot K, Ginther O. 2002. Follicle selection in cattle: dynamics of follicular fluid factors during development of follicle dominance. *Biol Reprod* 66: 120 – 126.

Beg C, Meira C, Bergfelt D, Ginther O. 2003. Role Of Oestradiol In Growth Of Follicles And Follicle Deviation In Heifers. *Reproduction* 125: 847–854

Beg M, and Ginther O. 2006. Follicle selection in cattle and horses: role of intrafollicular factors. *Soc Reprod Fertil Suppl* 132: 365 – 377.

Bravo P. 2002. Female reproduction. The reproductive process of South American Camelids. USA: Seagull Printing. 1 - 29.

Bravo P, Stabenfeldt G, Lasley B, Fowler M. 1991. The Effect of Ovarian Follicle Size on Pituitary and Ovarian Responses to Copulation in Domesticated South American Camelids. *Biol Reprod.* 45:553-559.

Carmona I, Galache P, Santos R, Diaz P, Batiza V, Hernández S. 2010. Influencia de las concentraciones séricas de estradiol en el resultado de ciclos de reproducción asistida in vitro. *Ginecol Obstet Mex* 78: 553 – 558.

Carson R, Findlay J, Clarke I, Burger H. 1981. Estradiol, Testosterone, and Androstenedione in Ovine Follicular Fluid During Growth and Atresia of Ovarian Follicles. *Bio Reprod.* 24:105-113

Cervantes M, Huanca W, Huanca T. 2007. Efecto del estadio del desarrollo folicular al momento de la monta sobre la ovulación y supervivencia embrionaria en alpacas. *Rev Invest Vet, Perú* 18(2): 122–128

De Wit A, Wurth Y, Kruip Th. 2000. Effect of ovarian phase and follicle quality on morphology and developmental capacity of the bovine cumulus oocyte complex. *J Anim Sci* 78: 1277 – 1283.

Donadeu F, Ginther O. 2002. Changes in Concentrations of Follicular Fluid Factors During Follicle Selection In Mares. *Biol Reprod* 66: 1111 – 1118.

Ferrer M, Agüero A, Chaves M, Russo A, Rutter B. 2002. Sincronización de la onda folicular mediante el uso de buserelina en la llama (*Lama glama*). *InVet* 4: 7 – 11.

Fortune J, Rivera G, Yang M. 2004, Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Anim Reprod Sci.* 2004 Jul; 82-83:109-26.

Gastal E, Gastal M, Wiltbank M, Ginther O. 1999. Follicle deviation and intrafollicular and systemic estradiol concentrations in mares. *Biol Reprod* 61:31 – 39.

Gigli I, Russo A, Agüero A. 2006. Consideraciones sobre la dinámica ovárica en equino, bovino y camélidos sudamericanos. *InVet* 8: 183 – 204.

Ginther O, Beg M, Bergfelt D, Kot K. 2002. Activin A, Estradiol, and Free Insulin-Like Growth Factor I in Follicular Fluid Preceding the Experimental Assumption of Follicle Dominance in Cattle Biol Reprod 67, 14–19

Glister C, Tannetta D, Gromme N, Knight P. 2001. “Interactions Between Follicle-Stimulating Hormone And Growth Factors Nin Modulating Secretion Of Steroids And Inhibin-Related Peptides By Nonluteinized Bovine Granulose Cells”. Biol Reprod, 65: 1020 – 1028.

Jamnongjit M, Hammes SR. 2006. Ovarian steroids: the good, the bad, and the signals that raise them. National Institutes of Health p:1178-1183.

Kably A, Ruiz J, Carballo E, Garzon J, Karchmer S. 2002. Evaluación de la proporción de esteroides sexuales intrafoliculares y séricos con el grado de madurez ovular. Acta medica grupo andes 1: 11 – 16

Kably A, Ruiz J, Carballo E, Karchmer S. 2005. Las concentraciones intrafoliculares de esteroides sexuales y su correlación con las enzimas antioxidantes en la calidad de los ovocitos en un programa de fertilización in Vitro. Ginecol Obstet Mex 73: 19 – 27.

Komar C, Berndtson A, Evans A, Fortune J. 2001. Decline In Circulating Estradiol During The Periovulatory Period Is Correlated With Decreases In Estradiol And Androgen, And Messenger RNA For P450 Aromatase And P450 A-Hydroxylase, In Bovine Preovulatory Follicles. Bio Repro 64: 1797 - 1805

Lenz M, Ramirez G, Uribe L. 2007. Papel del factor de crecimiento semejante a la insulina (IGF-I) en la regulación de la función ovárica. Biosalud 6:149 – 159.

Leroy J, Vanholder T, Delanghe J, Opsomer G, Van A, Bols P, *et al.* (2004). “Metabolic Changes In Follicular Fluid Of The Dominant Follicle In High-Yielding Dairy Cows Early Post Partum”. Theriogenology, 62: 1131 – 1143.

Pacheco J, Coila P. 2007. Composición del fluido folicular de folículos secundarios y terciarios de alpaca. *Archivos de Zootecnia* 59(227):451–454.

Kojima F, Bergfeld E, Wehrman M, Cupp A, Fike K, Mariscal-Aguayo D, *et al.* (2003). “Frequency Of Luteinizing Hormone Pulse In Cattle Influences Duration Of Persistence Of Dominant Ovarian Follicles, Follicular Fluid Concentrations Of Steroids, And Activity Of Insulin-Like Growth Factor Binding Proteins”. *Anim. Reprod. Sc.* 77:187 – 211.

Revelli A, Piane L, Casano S, Molinari E, Massobrio M, Rinaud P. 2009. Follicular fluid content and oocyte quality: from single biochemical markers to metabolomics. *Reprod Biol Endocrinol.* 7:40–52.

Riveros J, Schuler G, Bonacic C, Hoffmann B, Chavez G, Urquieta B. 2010. Ovarian follicular dynamics and hormonal secretory profiles in guanacos (*Lama guanicoe*). *Ani Reprod Sc* 119: 63 – 67.

Rodgers R, Irving H. 2010. Formation of the ovarian follicular antrum and follicular fluid. In: *Biol Reprod* 82:1021–1029.

Rosen M, Zamah A, Shen S, Dobson A, McCulloch C, Rinaudo P, *et al.* 2009. The effect of follicular fluid hormones on oocyte recovery after ovarian stimulation: FSH level predicts oocyte recovery. *Rep Biol and Endoc.* 7: 35

Salcedo G. 2016. Caracterización del complejo cumulus-ovocito (CCO) en las diferentes fases del desarrollo folicular en alpacas (*Vicugna Pacos*). Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Schneyer A, Fujiwara T, Fox J, Welt C, Adams J, Messerlian G, Taylor A. 2000. Dynamic changes in the Intrafollicular Inhibin/Activin/Follistatin Axis during Human Follicular Development: Relationship to Circulating Hormone Concentrations. *JCE & M* Vol. 85² No. 9

Skidmore J. 2005. Reproduction in dromedary camels: an update. *Anim. Reprod.* V.2 p:161-171.

Sumar J. 2002. Llamas y alpacas. En: Hafez ESE, Hafez B, editores. *Reproducción e inseminación artificial en animales*. 7ª ed. Mexico: McGraw Hill. p 224-242.

Sumar J. 2013. Embryo transfer in domestic South American Camelids. *EL Sevier* 136: 170 – 177.

Teissier M, Chable H, Paulhac S, Aubard Y. 2000. Comparison of follicle steroidogenesis from normal and polycystic ovaries in women undergoing IVF: relationship between steroid concentrations, follicle size, oocyte quality and fecundability. *Human Rep* 15: 2471 – 2477.

Tibary A, Pearson L, Campbell A. 2015. Embryo transfer in camelids. *Spermova*: 234-252

Vaughan J, Macmillan K, D'Occhio M. 2004. Ovarian follicular wave characteristics in alpacas. *Anim Reprod Sci* 80:353-361.

Vaughan J, Tibary A. 2006. Reproduction in female South American camelids: A review and clinical observation. *El Sevier* 61: 259 – 281.

Vaughan J, Mihm M, Wittek T. 2013. Factors influencing embryo transfer success in alpacas – A retrospective study. *El Sevier* 136: 194 – 204.

Zeleznik A. 2004. The Physiology of follicle selection. *Rep Biol and Endoc. BioMed Central.*: 1 – 7 p.