

Revista Electrónica Nova Scientia

Piroxicam y cambios ováricos de cabras adultas
Piroxicam and ovarian changes in adult goat

**Rafaela Segundo Pérez¹, Leonor Miranda Jiménez¹,
Alejandro Ángel Gómez Danés², Miguel Ángel Casiano
Ventura³, Adrián Raymundo Quero Carrillo¹ y Paulino
Pérez Rodríguez¹**

¹ Colegio de Postgraduados, *Campus* Montecillo.

² Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma
de Nayarit, Compostela, Nayarit.

³ Colegio de Postgraduados, *Campus* Puebla.

México

Leonor Miranda Jiménez. E-mail: miranda_leonor@yahoo.com

Resumen

La función de los ovarios puede alterarse por inhibidores de la enzima ciclooxigenasa (COX). La aplicación de piroxicam, antiinflamatorio no esteroideo e inhibidor de COX es de amplio uso veterinario (AINE) y puede alterar la función de los ovarios. El objetivo de esta investigación fue evaluar los cambios extra e intraováricos en cabras adultas en respuesta a piroxicam. En seis cabras adultas de entre 35 y 40 kg de peso vivo, se sincronizaron estros y ovulación, mediante la colocación de CIDR (dispositivo intravaginal de liberación controlada de P4) durante 11 días, al retirar el CIDR se aplicaron prostaglandinas F2 α y 400 UI de eCG (inducción de la ovulación). Antes (24 h), de la inducción de ovulación al grupo testigo y tratado (n=3) se les hicieron cuatro aplicaciones intramusculares de un ml de solución salina o piroxicam (1.5 mg⁻¹ kg de peso vivo) con intervalo de 24 h. Posterior a la primera aplicación de piroxicam (144 h) se extrajeron los ovarios. Se colectaron muestras sanguíneas cada 24 h; desde 48 h antes de la inducción de la ovulación y, hasta la ovariectomía. En ovario derecho e izquierdo se cuantificó el número y tamaño de folículos y cuerpos lúteos superficiales. En 16 cortes histológicos de cada ovario, se evaluaron las mismas estructuras con localización intraovárica. En suero sanguíneo se determinó la concentración sérica de progesterona (P4) y estradiol (E2). En los datos de folículos y CL se realizó la prueba de suma de rangos de Wilcoxon. Mientras que, P4 y E2 se analizaron utilizando modelos para datos con medidas repetidas (modelos mixtos lineales), los cuales fueron ajustados usando el programa estadístico R. La significancia en los resultados se consideró con $\alpha < 0.05$. La aplicación de piroxicam disminuyó el número de folículos intraováricos ($P < 0.0001$) y el de CL intraováricos en desarrollo ($P = 0.04$). Los niveles de P4 y E2 no se modificaron por aplicación de piroxicam ($P = 0.2$), aunque, P4 mostró elevación en concentración, coincidente con el momento de inducción de la ovulación, pero no con el tratamiento (0h; $P = 0.002$). Las alteraciones foliculares encontradas representan una vía más que piroxicam y otros AINE utilizan para inhibir la ovulación reportada con frecuencia en tratamientos con este tipo de fármacos.

Palabras clave: Reproducción; cabras; prostaglandinas; inhibidor de COX-2; AINE

Recepción: 24-07-2015

Aceptación: 24-01-2016

Abstract

Ovarian function can be altered by ciclooxigense enzyme inhibitors (COX). Piroxicam administration, a COX inhibitor, is an usual veterinary drug and it can alter the function of the ovaries. The aim of this research was to evaluate the intra and extra-ovarian changes in adult goats as a response to piroxicam. Six adult goats (35 to 40 kg of body weight) were used. Estrus synchronization and ovulation were induced by CIDR (controlled release device intravaginal progesterone) insertion through 11 days, when the CIDR was removed prostaglandin F₂α and 400 IU of eCG (ovulation induction) were applied. Before (24 h) ovulation induction, the goats in the control (n = 3) and treatment group (n = 3) were intramuscularly treated with one mL of saline solution or piroxicam (1.5 mg⁻¹ kg of body weight), respectively, in four applications with 24 h interval. After the first piroxicam application (144 h) ovaries were removed. Blood sampling was performed from 48 hours before ovulation induction until ovariectomy was performed. In left and right ovary surface, both number and size of follicles and corpora lutea were quantified. In 16 histological sections from each ovary, the same intraovarian structures were evaluated. Also both serum progesterone (P4) and estradiol (E2) were determined. Follicles and CL were analyzed through Wilcoxon rank sum test. While, E2 and P4 were analyzed using models for repeated measures (linear mixed models), which were fitted using the R statistical software. Differences were took at $\alpha < 0.05$. Piroxicam administration reduces intraovarian follicular number ($P < 0.0001$) and development of intraovarian CL ($P = 0.04$). Levels of E2 and P4 were not modified by piroxicam application ($P = 0.2$), although, P4 concentration showed elevation, coincident with the time of ovulation induction ($P = 0.002$), but not by treatment. Follicular alterations may be an alternative route that piroxicam and other AINE used to inhibit ovulation frequently reported with this drug treatments.

Keywords: Reproduction; Goats; prostaglandins; COX-2 inhibitor; AINE

Introducción

En el ovario se producen folículos que albergan y nutren al gameto femenino además de producir hormonas como E2 y P4. Con la maduración, ovulación y transformación del folículo se desarrolla el cuerpo lúteo (CL), responsable de producir P4 (Stouffer, 2006, 475; Frandson *et al.*, 2009, 434). Las prostaglandinas ejercen función autocrina o paracrina activando la señalización intracelular y forman parte del sistema regulador de procesos reproductivos (Jabbour y Sales, 2004, 398) como, ovulación y luteolisis (Sirois *et al.*, 2000, 208; Goff, 2004, 11) y participan en la respuesta inflamatoria (Ricciotti y FitzGerald, 2011, 986).

La síntesis de prostaglandinas está limitada por la ciclooxigenasa a nivel de conversión de ácido araquidónico (AA) a prostaglandina H₂ (PGH₂), sustancia precursora para diversas prostaglandinas que se generan a través de sintasas específicas (Smith y DeWitt, 1996, 158). Se han identificado dos isoformas diferentes de COX: 1) COX-1 expresada de forma constitutiva en la mayoría de células, incluyendo ciertos tipos de células cancerígenas (Zhang *et al.*, 2011, 1002) y 2) COX-2, expresada en células endoteliales (Jabbour *et al.*, 2005, 4657) e inducida por estímulos inflamatorios, hormonales o factores de crecimiento (Dubois *et al.*, 1998, 1063; Ricciotti y FitzGerald, 2011, 987).

La deficiencia de estas enzimas o del gen que las codifica resulta en; períodos de gestación y partos prolongados, menos crías vivas al nacimiento (Langenbach *et al.*, 1995, 488 y 1999, 54), fallas en ovulación, fertilización, implantación y decidualización (Lim *et al.*, 1997, 197; Langenbach *et al.*, 1999, 54).

El pico preovulatorio de hormona luteinizante (LH) en células de granulosa induce la expresión de COX-2, no así COX-1, por lo que LH se considera el principal detonante de COX-2 durante la ovulación (Wu y Wiltbank, 2001, 1565; Sirois *et al.*, 2004, 373).

La acción de COX-1 y COX-2 es antagonizada por antiinflamatorios no esteroideos (AINE) (Sirois *et al.*, 2004, 374) y el suministro de estos fármacos *i. e.* aspirina, naproxeno, celecoxib, meloxicam e indometacina, afectan el proceso ovulatorio (Gaytán *et al.*, 2006, 571; Salhab *et al.*, 2003, 487).

El piroxicam es otro AINE que se utiliza comúnmente a dosis que oscila entre 1.5 y 1.7 mg⁻¹ kg de peso vivo (PV) como tratamiento de enfermedades inflamatorias (Dubois *et al.*, 1998, 1064) sin existir reporte del tipo de alteraciones ováricas resultado de la aplicación de este fármaco.

El objetivo de este estudio fue determinar los cambios ováricos inducidos por la aplicación de un inhibidor de COX-2 (piroxicam) a cabras adultas de raza Criolla, bajo el supuesto de que, la

inhibición de COX-2 producida por la aplicación de antiinflamatorios no esteroideos como el piroxicam provoca alteraciones ováricas.

Materiales y Métodos

a) Lugar de estudio y características de los animales

Los animales se ubicaron en el campo experimental “La Huerta” del Colegio de Postgraduados, *Campus* San Luis Potosí, Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí, localizado al Oeste del Altiplano del mismo Estado, con coordenadas 23° 11' N 101° 22' O, a altura de 2,070 msnm, temperatura media anual de 18.7 °C y con precipitación pluvial de menos de 391mm (INEGI, 2009, 2).

Dos semanas antes de iniciar la investigación, seis cabras adultas de raza Criolla adquiridas de diferentes rebaños de la región, con edad promedio de tres años y condición corporal de 2.5 a 3 en escala de uno a cinco, se mantuvieron en condiciones similares de manejo.

b) Distribución de los animales y trabajo experimental

Todos los animales fueron manejados bajo normas de ética y cuidado animal establecidas en el Colegio de Postgraduados. La investigación inició en el mes de noviembre del año 2010. Las cabras fueron alimentadas con dieta (2.87 Mcal EM kg MS⁻¹ y 11% de PC) elaborada con base en heno de alfalfa molido, mezquite, maíz roado, sal de mar y nopal. El total de alimento ofrecido fue de 1, 500 g animal⁻¹, dividido en dos porciones, una por la mañana y otra por la tarde; en cada tiempo de alimentación, los animales fueron separados para ofrecer cada porción en comederos individuales, asegurándose que todo el alimento fuera consumido por el animal, el agua fue proporcionada *ad libitum*.

Cabras adultas de entre 35 y 40 kg de PV se dividieron al azar, en dos grupos de tres animales (n=3). El estro y la ovulación se indujeron colocando a cada cabra un dispositivo intravaginal con 0.3 g de P4 (CIDR; pfizer®) durante 11 días. Al momento de retirar el CIDR se administró una sola dosis de 400 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG) y 1 ml de PGF2α (Celosil®).

Un día antes de la inducción de la ovulación, a un grupo testigo y otro grupo tratado (n=3) se les aplicó vía IM un ml de solución salina o piroxicam (1.5 mg⁻¹ kg de PV) por tres días con intervalos de 24 h y, 144 h después del primer día que se aplicó piroxicam, se extrajeron los ovarios. Se realizó muestreo sanguíneo desde 48 h antes de inducir la ovulación hasta la ovariectomía, las muestras fueron colectadas por venopunción de vena yugular, con utilización de un BD

vacutainer[®], agujas BD vacutainer[®] de 21G x 25 mm y tubos de ensayo al vacío y sin anticoagulante, la sangre se dejó en reposo a 4 °C durante 24 h, posteriormente, se separó el suero del coágulo colocándolo en tubos eppendorf de 1.5 ml (Bio Plas Inc) y se congeló a -20 °C hasta el análisis hormonal, realizado con la técnica de radioinmunoanálisis (RIA) de fase sólida. Se utilizaron kits comerciales de Siemens, EE, UU; el de P4, con sensibilidad de 0.02 ng ml⁻¹ y coeficiente de variación intra e interensayo de 4.2% y 6% respectivamente y, el de E2, con sensibilidad de 8 pg ml⁻¹ y coeficiente de variación intra e interensayo de 4 y 7.8%, respectivamente.

Las ovariectomías se realizaron con una incisión de aproximadamente 2 cm a nivel de la línea alba. En ambos ovarios (derecho e izquierdo) recién colectados, se cuantificaron los folículos y CL que se encontraban en la superficie ovárica (estructuras fácilmente visibles por encontrarse en desarrollo; las cuales en etapa temprana de desarrollo pueden confundirse con folículos próximos a ovular y en etapa tardía es difícil su observación); posteriormente, los ovarios fueron fijados en paraformaldehído al 4% para preparación histológica y conteo de estructuras, utilizando un microscopio de óptica simple. Los folículos fueron clasificados de acuerdo a su diámetro como: pequeños (1 a 3 mm), medianos (>3 mm y ≤ 6 mm) y grandes (> 6 mm).

c) Análisis de laboratorio

Se prepararon 16 cortes histológicos de cada ovario con grosor de 4 micrómetros (μm) teñidos con hematoxilina-eosina (Ross y Bojciech, 2007, 2) y se observaron con microscopio compuesto (Axiom Optic Broadway, 14th floor, Cambridge, MA 02142, USA), se tomaron fotografías con objetivos: 5X, 10X y 20X, se contabilizaron los folículos intraováricos, CL en desarrollo y en regresión, tomando en consideración las características de luteinización mencionadas por Murphy (2000, 6), este manejo permitió diferenciar estructuras. El conteo se realizó en fotografías tomadas con objetivo 20X, iniciando de la parte superior del corte y recorriendo toda la muestra, tomando siempre como referencia de reinicio la última estructura observada y marcando las estructuras en cuanto eran contadas (Figura 1).

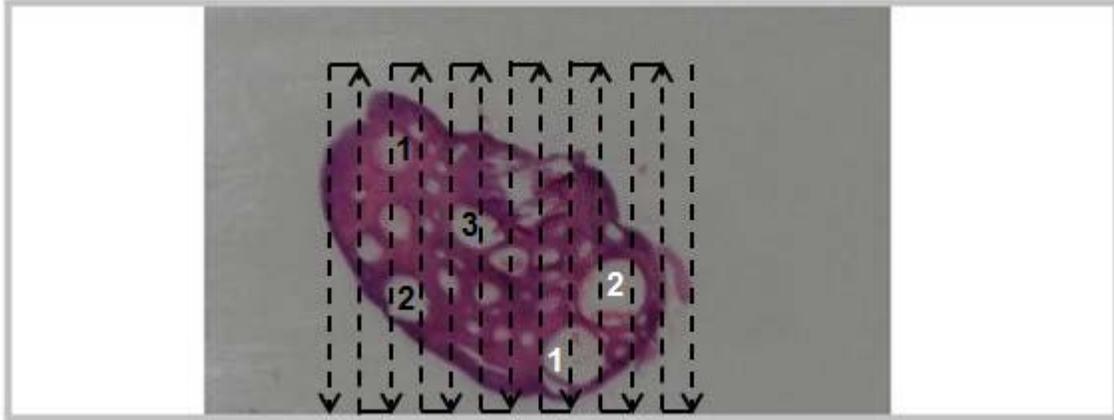


Figura 1. Esquema de la forma de contar las estructuras intraováricas de cada corte histológico.

Tanto la concentración de P4 como la de E2 fueron evaluadas en suero sanguíneo mediante RIA de fase sólida. El inmunoanálisis se realizó en el Laboratorio de Hormonas Protéicas, del Departamento de Biología de la Reproducción, en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán.

d) Modelo y Análisis estadístico

En el estudio, estructuras ováricas como número de folículos y cuerpos lúteos, tanto superficiales e intraováricos, se analizaron con estadística no paramétrica utilizando la prueba de suma de rangos de Wilcoxon (Myles y Douglas, 1973, 68), con $P \leq 0.05$. Los análisis fueron realizados usando el paquete estadístico R. (R Core Team, 2015).

Los datos para evaluar secreción de P4 se analizaron con el modelo mixto lineal:

$y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_1 \text{tiempo}_{ijk} + \beta_2 \text{tiempo}_{ijk}^2 + \beta_3 \text{tiempo}_{ijk}^3 + c_j + e_{ijk}$, donde y_{ijk} es el valor de P4 para tratamiento i ($i=1,2$), cabra j ($j=1,\dots,6$), en el tiempo k ($k=1,\dots,8$, Número de mediciones en cada cabra a lo largo del tiempo), τ_i es el efecto del tratamiento i , tiempo_{ijk} representa el número de horas transcurridas desde el inicio del experimento hasta el momento de realizar la determinación de y_{ijk} ; $\beta_1, \beta_2, \beta_3$ son coeficientes de regresión; $c_j \sim N(0, \sigma_c^2)$ representa el efecto aleatorio que permite considerar el hecho de que se tienen medidas repetidas y $e_{ijk} \sim N(0, \sigma_e^2)$ es un término aleatorio que representa el error. Para la variable E2, se utilizó un modelo similar, pero se eliminó el término cúbico. Los modelos fueron ajustados usando el paquete estadístico R (R Core Team, 2015).

Resultados y Discusión

Número de folículos

Para el número de folículos superficiales no se presentaron diferencias ($P= 0.12$; Cuadro 1). Mientras que la población de folículos intraováricos, se redujo a menos de la mitad por la aplicación de piroxicam ($P< 0.0001$; Cuadro 1).

Para la población de folículos superficiales se observó tendencia a reducirse; no obstante, ésta no fue estadísticamente significativa; lo anterior, probablemente debido al tamaño pequeño de muestra. Los hallazgos futuros pueden subsanarse aumentando el número de repeticiones.

Cuadro 1. Número de folículos superficiales e intraováricos de cabras tratadas con piroxicam (inhibidor de COX-2).

Tx [◇]	Folículos superficiales		Folículos intraováricos	
Testigo	29.00	3.89 EE	94.49a	5.80 EE
Piroxicam	18.50	2.13 EE	46.07b	6.39 EE

[◇]Tx=tratamiento, EE= error estándar. Literales diferentes entre columnas muestran diferencias con $P< 0.0001$.

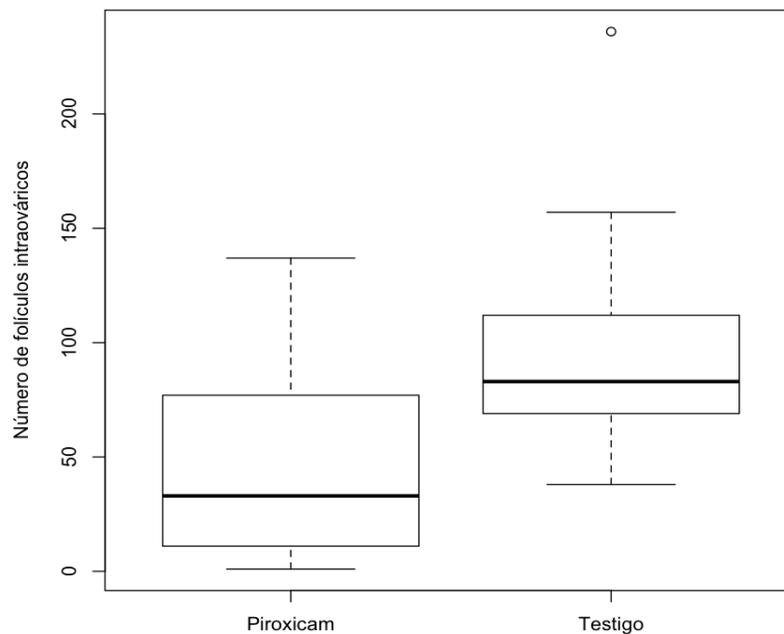


Figura 2. Diagrama de caja y bigotes para la distribución del número de folículos intraováricos, presentes en ovarios de cabras tratadas con piroxicam (inhibidor de COX-2).

Este trabajo representa el primer reporte del efecto de piroxicam sobre el número de folículos intraováricos afectados por este producto, ya que la mayoría solamente reporta el efecto como AINE en el retraso o inhibición de la ovulación (Akil *et al.*, 1996, 77; Bata *et al.*, 2006, 925; Pall *et al.*, 2001, 1328; Jesam *et al.*, 2010, 372). En base a la disminución de folículos observada en este estudio; se establece que el Piroxicam comprometió el número de ovulaciones, aunque ésta fue una variable que no se midió de forma directa, pero que puede predecirse por la disminución de CL; lo cual, también se documentó.

Número de cuerpos lúteos

De los CL que se estudiarán solo el número de CL intraováricos en desarrollo se redujó por aplicación del piroxicam (P=0.04; Cuadro 2).

Tanto COX-2 y prostaglandinas sintasa E2, ambas involucradas en la síntesis de prostaglandinas, se elevan en perros (Kowalewski *et al.*, 2015, 1038) y roedores (Rogan *et al.*, 2008, 5861) en etapa de formación y rescate de CL, lo que indica que COX-2 es importante para la formación y rescate del CL en éstas especies (Arosh *et al.*, 2004, 5280; Kawaguchi *et al.*, 2013, 225); sin embargo, esto se ha estudiado someramente en pequeños rumiantes, por lo que buscadores de información médico científica arrojan escasa información al respecto (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>; noviembre, 2015). En el caso específico de este trabajo, bloquear la síntesis de COX-2 con la administración de piroxicam disminuyó el número de CL intraováricos en desarrollo a menos de la mitad, este resultado al igual que la reducción en folículos grandes sugiere que el número de ovulaciones disminuyó.

Cuadro 2. Número de cuerpos lúteos (CL) superficiales e intraováricos (en desarrollo y regresión).

Tx ^o	CL		CL intraováricos	
	Superficiales		desarrollo	regresión
tigo	33	0.34EE	a) 0.0 EE	0.71EE
xicam	33	0.33EE	b) 0.24 EE	3.24EE

^oTx=tratamiento, CL=cuerpos lúteos, EE= error estándar. Literales diferentes dentro de columnas muestran diferencias con P= 0.04.

Concentración sérica de P4

La hormona P4 se considera marcador de la función lútea. Para corroborar la alteración de la función de los CL superficiales e intraováricos provocada por la aplicación de un inhibidor de COX-2, se evaluó la concentración sérica de esta hormona, la cual fue similar tanto para el grupo testigo (2.22 ng ml^{-1}) como para el tratado (2.19 ng ml^{-1}) con piroxicam ($P=0.2$), por lo que se puede afirmar que el número de cuerpos lúteos superficiales en desarrollo, aún presentando la capacidad estrogénica, no influyeron en la concentración de P4, resultado similar se reportó por Gonzalez de Bulnes *et al.* (2000, 67) en ovejas y Tolentino-Castro *et al.* (2015, 267), en cultivo *in vitro* de CL provenientes de cabras; quienes al estudiar la producción de progesterona de CL superficiales con cavidad, con la posibilidad de presentar menor concentración de P4 por su formación estructural incompleta, afirman que el área de tejido luteal no influye en la concentración de P4. En base a los resultados mostrados, se observa que la localización de CL en desarrollo tampoco es determinante para producir concentraciones de P4 diferentes.

Los niveles de secreción de P4 fueron diferentes respecto al tiempo (Figura 3; $P=0.002$), se presentó un pico en la producción de ésta; en el momento de inducir la ovulación, sin embargo, el tratamiento no fue la causa de la diferencia. La producción de P4 puede relacionarse con el inicio de luteinización que sucede en algunas especies poco antes de la ovulación o aproximadamente 36 horas después del pico preovulatorio de LH (Costa *et al.*, 2004, 1752). Si se considera que las cabras recientemente se habían expuesto a un dispositivo intravaginal de liberación de P4; lo cual, también sería causal de elevación de esta hormona. Otro factor de elevación se puede atribuir a la persistencia de CL del ciclo anterior, aunque en esta investigación es poco probable, dado que se realizó aplicación de PGF 2α ; la cual, produce regresión de CL y con ello, disminución de P4 de CL formados en ciclos estrales anteriores.

La disminución de P4 registrada a las 24 horas, concuerda con reportes que mencionan que en algunas especies, P4 puede presentarse por corto tiempo y que a su vez, es reflejo de CL afuncionales (Stouffer *et al.*, 2013, 266). En cabras, se reporta la presencia de ciclos estrales cortos que van desde tres a siete días de duración y que se relacionan con cuerpos de vida media corta; sobre todo, al inicio de la fase reproductiva (Garverick *et al.*, 1992, 122)

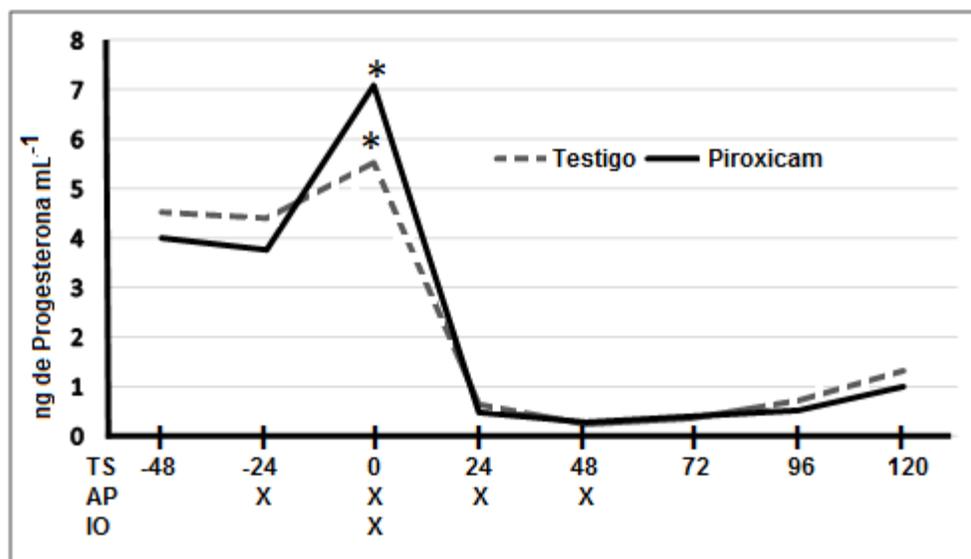


Figura 3. Distribución de la concentración sérica de P4 en cabras tratadas con piroxicam. * Muestran diferencias en horas. TS= Tiempo de sangrado en horas, AP= Aplicación de piroxicam, IO= Inducción de la ovulación, X muestra el tiempo de realización de TS, AP e IO.

Concentración sérica de E2

El marcador de la función folicular por excelencia es el E2; el cual, no se afectó por la aplicación de piroxicam ($P=0.2$; Figura 4), aún cuando se encontró menor número de folículos intraováricos de cabras tratadas. Este resultado se considera normal, dado que en esta investigación los folículos intraováricos fueron en su mayoría los observados con ayuda del microscopio; lo cual, es indicador de que se trató de folículos pequeños con poca o nula actividad estrogénica. Sousa *et al.* (1997, 485), reportaron que en borregas, la máxima producción de estrógenos se registra cuando el folículo alcanza un tamaño mayor a 5 mm de diámetro. Por otro lado Fatum *et al.* (2006, 407), indican que en ratonas solo los folículos con anro y células de la granulosa con capacidad de aromatización, son capaces de producir esta hormona y, similarmente, que folículos que alcanzan 8 mm disminuyen la capacidad de producción estrogénica, proceso inducido por la elevación del pico preovulatorio de LH, que disminuye la producción de andrógenos, sustancias fundamentales para ser aromatizadas (Ericson *et al.*, 1985; citado por Walters, 2015, R194).

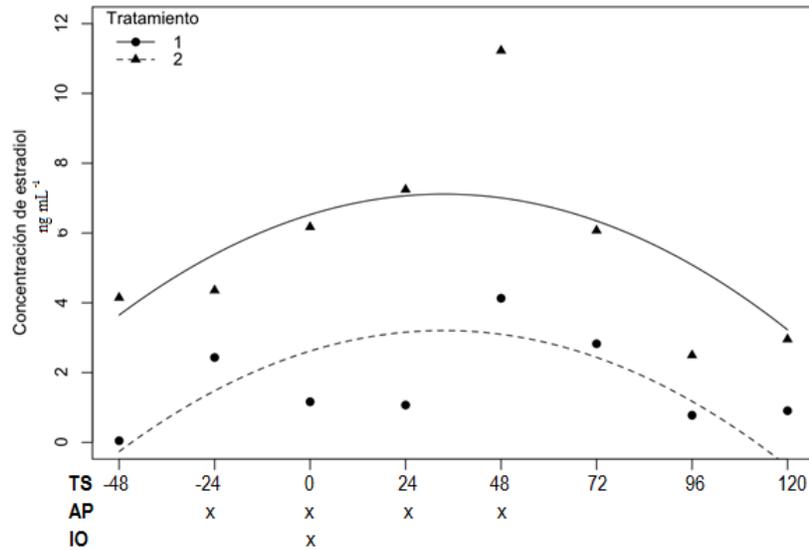


Figura 4. Distribución de la concentración sérica de E2 en cabras tratadas con piroxicam. 1= Testigo, 2= Tratamiento con piroxicam, TS= Tiempo de sangrado en horas, AP= Aplicación de piroxicam, IO= Inducción de la ovulación. Las líneas representan los modelos ajustados. X muestra el tiempo de realización de TS, AP e IO.

La aplicación de AINE como tratamiento anti-inflamatorio y para contrarrestar síntomas de varias patologías, es de uso cotidiano, aunque los efectos secundarios pocas veces se consideran. Se sabe que estos productos reducen la tasa de ovulación, o bien que ésta puede ser defectuosa (Gaytan *et al.*, 2006, 572), alterando con ello la fertilidad. En animales domésticos esta baja fertilidad es motivo de desecho de hembras por considerarse poco productivas. Con los resultados de este estudio, se puede observar que la ovulación no solo es alterada en el proceso *per se*, también por disminución del número de folículos, principalmente la población de folículos intraováricos, grupo de folículos que abastecen la poblaciones foliiculares subsecuentes.

Conclusión

La aplicación de piroxicam a cabras adultas produjo disminución de folículos intraováricos (pequeños), lo que puede considerarse como causa de la disminución en la ovulación; la cual, se refleja en disminución de CL intraováricos en desarrollo.

Referencias

Akil M., R.S. Amos and Stewart P. (1996). Infertility may sometimes be associated with NSAID consumption. *British Journal of Rheumatology*. 35: 76-78.

Arosh J.A., S.K. Banu., S. Kimmins., P. Chapdelaine., L. A. Maclaren and Fortier M.A. (2004). Effect of interferon-tau on prostaglandin biosynthesis, transport, and signaling at the time of maternal recognition of pregnancy in cattle: evidence of polycrine actions of prostaglandin E2. *Endocrinology*. 145(11): 5280-93.

Bata M.S., M. Al-Ramahi., A.S. Salhab., M.N. Gharaibeh and Schwartz J. (2006). Delay of ovulation by meloxicam in healthy cycling volunteers: a placebo controlled, double blind, crossover study. *Journal Clinics Pharmacology*. 46: 925-932.

Costa L.O.B., M.C. Mendes., R.A. Ferriani., M.D. Moura., R.M. Reis and Silva de Sá M.F. (2004). E2 and testosterone concentrations in follicular fluid as criteria to discriminate between mature and immature oocytes. *Brazilian Journal of Medical and Biology Research*. 37: 1747-1755.

Dubois R.N., S.B. Abramson., L. Crofford., R.A. Gupta., L.S. Simon., L.B. Van De Putte and Lipsky P.E. (1998). Cyclooxygenase in biology and disease. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*. 12: 1063-1073.

Fatum M., Y. Gyo., P. Diana., N. Laufer and Simon A. (2006). Is E2 mandatory for an adequate follicular and embryo development? A mouse model using aromatase inhibitor (anastrozole). *Journal of Assisted Reproduction Genetics*. 23: 407-412.

Frandsen R.D., W.W. Lee and Dee F.A. (2009). *Anatomy and physiology of farm animals*. 7th ed. 434-435. Iowa, USA: Wiley-Blackwell .

Garverick H.A., W.G. Zollers and Smith M.F. (1992). Mechanisms associated with corpus luteum lifespan in animals having normal or subnormal luteal function. *Animal Reproduction. Science*. 28: 111-124.

Gaytán M., C. Bellido., C. Morales., J.E. Sánchez-Criado and Gaytán F. (2006). Effects of selective inhibition of cyclooxygenase and lipoxygenase pathways in follicle rupture and ovulation in the rat. *Reproduction*. 132: 571-577.

Goff A.K. (2004). Steroid hormone modulation of prostaglandin secretion in the ruminant endometrium during the estrous cycle. *Biology Reproduction*. 71: 11-16.

Gonzalez de Bulnes A., M.J. Santiago., B.A. Gómez and López S.A. (2000). Relationship between ultrasonographic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration during the oestrous cycle in monovular ewes. *Reproduction Domestic Animals*. 35: 65-68.

INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). (2009). *Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, Salinas San Luis Potosi*. <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/datos-geograficos/24/24025.pdf>. (5 de junio de 2015).

Jabbour H.N. and Sales K.J. (2004). Prostaglandin receptor signalling and function in human endometrial pathology. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 15(8): 398-404.

Jabbour H.N., K.J. Sales., S.C. Boddy., R.A. Anderson and Williams A.R.W. (2005). A positive feedback loop that regulates cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin F₂ α synthesis via the F-series-prostanoid receptor and extracellular signal-regulated kinase 1/2 signaling pathway. *Endocrinology*. 146(11): 4657-4664.

Jesam C., A.M. Salvatierra., J.L. Schwartz and Croxatto H. B. (2010). Suppression of follicular rupture with meloxicam, a cyclooxygenase-2 inhibitor: potential for emergency contraception. *Human Reproduction*. 25(2): 368-373.

Kawaguchi S., A. Bowolaksono., S. Yoshioka., R. Sakumoto., Okuda K. (2013). Luteoprotective mechanisms of prostaglandin F₂ α stimulated by luteinizing hormone in the bovine corpus luteum. *Journal Reproduction Development*. 59(3): 225-30.

Kowalewski M.P., S. Ihle., M.J. Siemieniuch., A. Gram., A. Boos., S. Zduńczyk., J. Fingerhut., B. Hoffmann., G.A. Jurczak., A. Domośławska and Janowski T. (2015). Formation of the early canine CL and the role of prostaglandin E₂ (PGE₂) in regulation of its function: An *in vivo* approach. *Theriogenology*. 1: 1-10.

Langenbach R., S.G. Morham., H.F. Tiano., C.D. Loftin., B.I. Ghanayem., P.C. Chulada., J.F. Mahler., C.A. Lee., E.H. Goulding., K.D. Kluckman, H.S. Kim and Smithies O. (1995). Prostaglandin synthase 1 gene disruption in mice reduces arachidonic acid-induced inflammation and indomethacin-induced gastric ulceration. *Cell*. 83: 483-492.

Langenbach R., C.D. Loftin., C. Lee and Tiano H. (1999). Cyclooxygenase-deficient mice. A summary of their characteristics and susceptibilities to inflammation and carcinogenesis. *Annals of New York Academy of Sciences*. 889: 52-61.

Lim H., B.C. Paria., S.K. Das., J.E. Dinchuk., R. Langenbach., J.M. Trzaskos and Dey S. K. (1997). Multiple female reproductive failures in cyclooxygenase 2-deficient mice. *Cell*. 91: 197-208.

Murphy B.D. (2000). Models of luteinization. *Biology of Reproduction*. 63: 2-11.

Myles, H. and Douglas A.W. (1973). *Nonparametric statistical methods*. New York. 115-120. John Wiley & Sons.

Pall M., B.E. Fridén and Brännström M. (2001). Induction of delayed follicular rupture in the human by the selective COX-2 inhibitor rofecoxib: a randomized double-blind study. *Human Reproduction*. 16(7): 1323-1328.

R Core Team. (2015). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Ricciotti E. and FitzGerald G.A. (2011). Prostaglandins and inflammation. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*. 31(5): 986-1000.

Rogan R.L., M.J. Murphy., R.L. Stouffer and Hennebold J.D. (2008). Prostaglandin synthesis, metabolism, and signaling potential in the rhesus macaque corpus luteum throughout the luteal phase of the menstrual cycle. *Endocrinology*. 149(11): 5861-71.

Ross H.M. y Bojciech P. (2007). Técnica histológica y microscopia en histología texto y atlas color con biología celular molecular, 5ª ed. 975. Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.

Salhab A.S., B.I. Amro and Shomaf M.S. (2003). Further investigation on meloxicam contraceptivity in female rabbits: luteinizing unruptured follicles, microscopic evidence. *Contraception*. 67: 485-489.

Sirois J., J. Liu., D. Boerboom and Antaya M. (2000). Prostaglandins and ovulation: from indomethacin to PGHS-2 knockout. In Adashi EY *Ovulation: Evolving Scientific and Clinical Concepts*. Springer. New York. pp 208-220.

Sirois J., K. Sayasith., K.A. Brown., A.E. Stock., N. Bouchard and Doré M. (2004). Cyclooxygenase-2 and its role in ovulation: a 2004 account. *Hum Reproduction Update*. 10(5): 373-385.

Smith W.L. and DeWitt D.L. (1996). Prostaglandin endoperoxide H synthase-1 and -2. *Advances in Immunology*. 62: 167-215.

Sousa C.J.H., B.K. Campbell and Bair D.T. (1997). Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during the follicular and early luteal phase of the estrous cycle. *Biology of Reproduction* 56: 483-488.

Stouffer R.L. (2006). Structure, function, and regulation of the corpus luteum. *Physiology of Reproduction*. vol. 1, 3a. ed., pp: 475-526.

Stouffer R.L., C.V. Bishop., R.L. Bogan., F. Xu and Hennebold J.D. (2013). Endocrine and local control of the primate corpus luteum. *Reproductive Biology*. 13(4): 259-271.

Tolentino C.C., J.L. Miranda., C.A. Quero y Pescador S.N. (2015). Frecuencia, morfología y concentración de progesterona in vitro de cuerpos luteos cavitarios de ovejas. *Agrociencia*. 49: 267-265.

Walters K.A. (2015) Role of androgens in normal and parthological ovarian function. *Reproduction*. 149: R193-R218.

Wu Y.L. and Wiltbank M.C. (2001). Transcriptional regulation of cyclooxygenase-2 gene in ovine large luteal cells. *Biology Reproduction*. 65: 1565-1572.

Zhang H., B. Von Schoultz., J.M. Cline and Sahlin L. (2011). Distribution of cyclooxygenase -1 and -2 in uterus and breast from cynomolgus monkeys effects of hormone treatment. *Menopause*. 18(9): 1001-1009.