

123 / *icm*



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

VARIABILIDAD DE CELULAS CEBADAS EN UTERO DE VACA BAJO DIVERSAS CONDICIONES HORMONALES.

T E S I S

Que para obtener el título de:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P r e s e n t a :

JOSE OSCAR LORENZANA PINEDA

Asesor: M.V.Z. JORGE TOLOSA SANCHEZ

México, D. F.

1981





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

RESUMEN	1
INTRODUCCION	3
MATERIAL Y METODOS	8
RESULTADOS	10
DISCUSION	16
CONCLUSIONES	20
BIBLIOGRAFIA	21

R E S U M E N

Se estudió el patrón de distribución y la población de células cebadas en el útero de vaca bajo diversas condiciones hormonales. Para -- ello se recolectaron ovarios y fragmentos de útero los cuales fueron procesados para ser teñidos con la técnica de Unna para mastocitos y agrupados en: grupo A) los úteros que presentaron características de la fase folicular del ciclo estral y cuyo ovario también presentó las características de esta fase; grupo B) los úteros que presentaron características de la fase progestacional temprana del ciclo estral y cuyos ovarios coincdieron con los eventos que ocurren en esta fase y grupo C) los úteros que presentaron características de la fase progestacional tardía del ciclo y cuyos ovarios también coincidieron con lo que ocurre en esta fase.

El mayor porcentaje de células cebadas se encontró en endome--trio, el menor en miometrio y el perimetrio presentó un porcentaje intermedio. Tanto la porción caruncular como intercaruncular del endometrio, las células se presentaron predominantemente en la porción subepitelial y frecuentemente asociadas a la adventicia de los vasos sanguíneos; este último hecho también fué observado en el miometrio y perimetrio. La población de células cebadas, contadas en 24 diferentes campos del útero - escogidos al azar y de los cuales 8 pertenecían al endometrio, 8 al miometrio y 8 al perimetrio, se comparó entre los distintos grupos y no hubo diferencia significativa ($P > 0.05$). Tampoco se encontraron diferen--cias significativas entre poblaciones de células cebadas de los cuernos uterinos izquierdo y derecho.

Se postula que las razones por las que el útero de la vaca se comporta de manera diferente al de la rata y hamster sean que las células cebadas de los animales domésticos no posean receptores específicos de estrógenos para desencadenar su degranulación, ya que los procesos implicados en

el fenómeno de implantación de estos animales, es diferente en el hamster y rata, o bien, que la población constante de células cebadas en el útero de la vaca, se deba a las variaciones de los niveles de estrógenos a lo largo del ciclo estral de esta especie.

INTRODUCCION

Es ampliamente reconocido que el útero de la vaca, al igual que el del resto de los mamíferos domésticos, sufre una serie de cambios morfológicos a lo largo del ciclo estral. Se dice (28) que dichos cambios son hormono-dependientes y afectan la mayor parte de los elementos que constituyen -- al útero.

La descripción histológica del útero de la vaca es en términos generales similar a la de cualquier mamífero doméstico con la excepción de que el endometrio presenta unas estructuras denominadas carúnculas o cotiledones los cuales representan el sitio donde se desarrolla la placenta durante la preñez. Al microscopio óptico estas estructuras se caracterizan por presentar una lámina propia que, a diferencia de la que se encuentra en el espacio intercaruncular, carece de glándulas y se encuentra constituida por un tejido conjuntivo de aspecto similar al del estroma de la zona cortical del ovario. Hacia la porción profunda del cotiledón es factible encontrar vasos --- sanguíneos en gran cantidad. Además a diferencia de las carúnculas que presentan las borregas, la superficie es convexa en las vacas (13).

En términos generales se dice que el ciclo estral de los bovinos - dura 21 días dividido en 2 fases: la fase folicular y la fase lútea o -- progestacional. La primera es corta, dura de 3 a 5 días y termina al finalizar el estro; la segunda es más prolongada, 16 a 17 días y se inicia después de terminar el estro (13).

Los cambios que ocurren durante las diferentes fases del ciclo --- estral en el endometrio de la vaca han sido descritos por diversos autores - (4, 18, 23, 24) y a continuación se resumen:

Durante la fase folicular hay modificaciones estructurales que se caracterizan por un engrosamiento de la mucosa, lo cual depende de la proliferación celular y de los fenómenos edematosos que se inician en la profun--

didad de la mucosa uterina, extendiéndose progresivamente hacia la superficie. En las células del epitelio de revestimiento se pueden apreciar vacuolas en su porción basal y acúmulos de glucógeno en su citoplasma, los núcleos de -- estas células ocupan los dos tercios de la altura del epitelio, dándole un aspecto estratificado. Durante los primeros días de la fase progestacional, es posible observar al corte histológico que frecuentemente el epitelio del útero aparece desprendido con algunos núcleos plnóticos y citoplasma vacuolado. Al séptimo día después de haberse iniciado esta fase las caracterfsticas histológicas del endometrio son la migración de los núcleos hacia la base de las células epiteliales, la individualización de la lámina propia es muy aparente y lo mismo que la abundancia de fibras colágenas en el tejido conjuntivo; en el epitelio de revestimiento se presentan abundantes mitosis, en cambio las mitosis en el epitelio glandular son escasas. Hacia el día 14 al 16 después de haberse iniciado la fase progestacional las mitosis en el epitelio endometrial disminuyen, el edema empieza a aparecer entre las fibras colágenas de la lámina propia y pueden observarse algunas mitosis en el tejido conjuntivo de los cotiledones.

De manera similar el ovario de las vacas presenta también cambios -- morfológicos a lo largo del ciclo estral. Dichos cambios han sido descritos por diversos autores (6, 13). y pueden agruparse en tres categorías: a) ovarios con folículos maduros (12 a 19 mm de diámetro) y cuerpos lúteos en franca regresión (color café ladrillo). b) Ovarios con cuerpos lúteos en desarrollo, ya sea que presenten pequeños puntos hemorrágicos o sean de color -- blanco pardo o ligeramente amarillo. (6). c) Ovarios con folículos secundarios o terciarios (10 mm de diámetro o menos) y cuerpos lúteos que empiecen a entrar en regresión (color amarillo brillante) después de haber alcanzado su tamaño máximo (20 a 25 mm) (6).

Evidencias experimentales sugieren que los cambios durante el ciclo estral en el ovario están regulados por la interacción compleja de gonadotropinas hipofisarias, aminas biógenas, hormonas esteroideas y prostaglandinas E_2 y F_2 alfa (7).

Estos cambios morfológicos en ovario traen consigo cambios funcionales y así tenemos que la cantidad de progesterona y estrógenos secretados durante el ciclo varía (6, 7, 13 y 28).

A partir del primer día posterior al estro los niveles sanguíneos de progesterona aumentan paulatinamente hasta alcanzar su máximo, alrededor del día 7 manteniéndose constantes hasta el día 13 en el cual comienzan a declinar paulatinamente hasta el día 16 post-estro día a partir del cual la progesterona no es detectable en sangre (12).

Los niveles sanguíneos de los estrógenos presentan un ligero aumento hacia el día 7 post-estro y disminuyen hacia el final del siguiente día (fig. 1), de nuevo comienzan a incrementarse a partir del día 15 alcanzando su nivel máximo el día 21, para disminuir bruscamente hacia el final del estro (12).

Uno de los principales cambios morfológicos que ocurren en el aparato genital se presenta en los vasos sanguíneos que lo irrigan. Se ha postulado (3, 10, 11, 15, 24) que, al menos en la rata y hamster, estos cambios son probablemente debidos a la acción de los estrógenos sobre las células cebadas del útero; ya que la población de éstas varía en relación a diferentes condiciones hormonales.

Las células cebadas fueron identificadas por primera vez por Ehrlich en 1877 (9) como un grupo de células pertenecientes al tejido conjuntivo. Los gránulos citoplasmáticos que poseen estas células son metacromáticos y miden aproximadamente 0.5 micras de diámetro (14), se encuentran limi-

tados por una membrana unidad y en su interior contienen aminas-biógenas y polisacáridos sulfatados (2, 9, 14, 17). En algunas especies (19) se ha determinado que los gránulos son hidrosolubles por esto es recomendable que la fijación se haga en soluciones alcohólicas.

Entre las aminas biógenas que han podido ser identificadas en --- dichos gránulos están la histamina, la cual está presente en todas las especies estudiadas (9) 5-hidroxitriptamina también conocida como serotonina, la cual ha sido determinada en rata (2) y ratón (29), y la dopamina identificada en las células cebadas de la vaca y la oveja. (8, 9).

Tanto la histamina como la 5-hidroxitriptamina provocan cambios en el diámetro y la permeabilidad de los capilares así como la contracción de la musculatura lisa (5).

La heparina es un mucopolisacárido sulfatado que se encuentra también en los gránulos de las células cebadas y es el compuesto responsable de la metacromasia. Además de su ampliamente conocida acción anticoagulante, la heparina se sabe que modifica la actividad de por lo menos 50 enzimas -- (16). Se dice también (20) que en el ciclo ovárico la heparina puede ser -- responsable de la caída de la producción de esteroides foliculares en la -- época cercana a la ovulación por medio de la inhibición del acoplamiento entre el receptor hormonal y la adenilciclasa. Otras actividades han sido --- descritas en una reciente revisión del tema por L.B. Jaques (16).

Es un hecho ampliamente conocido que el comportamiento del aparato genital de los mamíferos domésticos y de los roedores de laboratorio, -- manifiesten una serie de características comunes que han permitido elaborar ciertas generalizaciones. Sin embargo, el endometrio de los roedores de laboratorio, a diferencia de los mamíferos domésticos, es capaz de sufrir una serie de modificaciones conocidas como reacción decidua. Se ha postulado -

que la histamina es la responsable de dicha reacción (10, 27, 29). Otra diferencia que es bueno señalar, es el hecho de que las diferentes fases del ciclo estral, en la mayoría de los roedores de laboratorio, pueden ser determinadas fácilmente por citología exfoliativa, lo cual, como lo señala L.E. McDonald (22) no es una práctica confiable en la vaca.

Ya que la variabilidad de células cebadas ha sido observada en animales de laboratorio, el propósito del presente trabajo fué determinar si existía variación de la población de dichas células en el útero de la vaca, bajo diferentes condiciones hormonales tal y como ha sido reportado que ocurre en rata (11) y Hamster (15, 25).

En el rastro de Ferrería de la Ciudad de México se recolectaron ovarios y fragmentos de cuernos uterinos izquierdo y derecho de vacas cruzada de cebú con criollo, inmediatamente después algunos fragmentos de fijaron como mínimo durante 24 horas en formol al 10% en solución acuosa y --- otros en formol al 10% en solución alcohólica con el propósito de determinar el fijador más adecuado para evidenciar los gránulos de las células cebadas en esta especie.

Posteriormente se hizo un examen macroscópico de los ovarios para determinar las características morfológicas que permitieran presuponer el estado funcional de los mismos y de este modo poder hacer tres grupos de animales. En el grupo A quedaron incluidos todos aquellos ovarios que reunían las características de la fase folicular descritas en la literatura y en la introducción del presente trabajo (6, 13), en el grupo B aquellos que reunían las características de las etapas tempranas de la fase --progestacional y en el grupo C los que reunían las características de las etapas tardías de la fase progestacional. Una vez anotadas las observaciones macroscópicas se procesaron fragmentos de ovario y útero para su inclusión en parafina. Se hicieron cortes de 5 micras de grosor y se tiñeron con la técnica Hematoxilina y Eosina para correlacionar las características histológicas de la mucosa endometrial con las observaciones macroscópicas hechas en los ovarios. Aquellos animales cuyas características morfológicas endometriales no correspondían con la fase del ciclo estral presupuesta por la morfología macroscópica del ovario fueron desechados. Los animales seleccionados se agruparon como se mencionó anteriormente constituyendo a cada grupo un mínimo de 5 animales.

Los úteros se cortaron en serie y se tiñeron con la técnica de Unna para células cebadas (21), se aclararon con xilol y se montaron con -

resina sintética. Para hacer el conteo de células cebadas se dividió al útero en endometrio, miometrio y perimetrio. De cada una de estas porciones se escogieron 8 campos al azar y con el objetivo 40 X se hizo el conteo. Se --- contaron 30 cortes por grupo haciendo un total de 720 campos para el grupo B y C, y de 864 campos para el grupo A.

Oado que las células cebadas suelen medir por arriba de cinco y -- no más de 10 micras se evitó la posibilidad de que una célula fuera contada dos veces al hacer el conteo en cortes alternados (un corte sí y uno no).

Los resultados se sometieron a la prueba de t Student para determinar si existía una diferencia significativa en la población de células cebadas bajo las diferentes condiciones hormonales.

De los fijadores ensayados el formol al 10% en solución acuosa fué el más adecuado para poner de manifiesto a las células cebadas en el útero - de la vaca con el método de Unna.

En todos los grupos se encontraron células cebadas tanto en endometrio, miometrio como perimetrio, en los grupos A y C el mayor porcentaje de células cebadas se observó en el endometrio seguido por el perimetrio -- (cuadro # 1), a diferencia del grupo B en el cual la situación fué a la inversa. En todos los grupos el menor porcentaje de células cebadas fué en el miometrio.

La distribución de las células cebadas en el endometrio es manifiestamente mayor en las porciones de la lámina propia subyacente al epitelio endometrial y en el tejido conjuntivo colindante al miometrio, aunque en menor cantidad, también es factible encontrar células cebadas en las demás -- porciones. En las caránculas, las células cebadas suelen presentarse en las porciones subepiteliales y en la adventicia de los vasos. En el miometrio -- dichas células tienden a presentarse en mayor cantidad hacia la porción vascular del miometrio. En el perimetrio se encuentran también fundamentalmente asociadas a la adventicia de los vasos sanguíneos que se localizan en esta -- capa.

El número total de células cebadas fué de 6,380. 5,187 y 7,021, -- para los grupos A (folicular), B (progestacional temprana) y C (progestacional tardía) respectivamente. Por medio de la prueba de t Student se determinó que las variaciones observadas no son estadísticamente significativas -- (Cuadro # 2). Tampoco se encontró diferencia significativa entre el cuerno -- uterino izquierdo y derecho (cuadro # 3), lo mismo que entre la población de

células cebadas del endometrio, miometrio y perimetrio de la fase foli-
lar comparado con la capa respectiva de la fase progestacional temprana y
la progestacional tardía (cuadro # 4).

Por último, cabe hacer notar que, en la mucosa endometrial de la
vaca, indistintamente a la fase del ciclo se pudo observar la presencia de
macrófagos que contenían en su interior gránulos de hemosiderina, lo cual
fué determinado mediante la aplicación a cortes histológicos de la técnica
del Azul de turnbull, que pone en evidencia la presencia de dicho compues-
to (21). La presencia de estas células ha sido reportado por De'leo (5) en
el triángulo mesometrial del útero de la rata a la altura de los sitios de
implantación y durante los primeros días de preñez.

CUADRO 1

Cifras porcentuales de células cebadas en las diferentes capas del útero de vaca en diversas fases del ciclo estral

FASE DEL CICLO	No. DE VACAS	CELULAS CEBADAS EN ENDOMETRIO %	CELULAS CEBADAS EN MIOMETRIO %	CELULAS CEBADAS EN PERIOMETRIO %
FOLICULAR	6	40.48	26.33	33.17
PROGESTACIONAL TEMPRANA	5	35.6	25.72	38.67
PROGESTACIONAL TARDA	5	45.18	27.16	27.65

CUADRO 2

Número de células cebadas en el útero de la vaca en diferentes fases del ciclo estral

FASE DEL CICLO	No. DE VACAS	No. DE CAMPOS EXAMINADOS	\bar{X} DE CELULAS POR CAMPO	No. DE CELULAS CEBADAS EN 24 DIFERENTES CAMPOS DEL UTERO (MEDIA \pm DESVIACION ESTANDAR)
FOLICULAR	6	864	7.38	1063.3 \pm 572
PROGESTACIONAL TEMPRANA	5	720	9.75	1404.2 \pm 953.97
PROGESTACIONAL TARDIA	5	720	7.20	1037.4 \pm 328.26

CUADRO 3

Células cebadas de la vaca en cuerno uterino izquierdo
(UI) y cuerno uterino derecho (UD)

FASE DEL CICLO	No. DE VACAS	U.I. MEDIA \pm D.S.	U.D. MEDIA \pm D.S.*
FOLICULAR	6	579.16 \pm 284.14	484.16 \pm 350.37
PROGESTACIONAL TEMPRANA	5	744.2 \pm 508.76	660 \pm 487.75
PROGESTACIONAL TARDIA	5	548.8 \pm 208.96	488.6 \pm 450.59

* D.S. = Desviación estandar

CUADRO 4

Comparación de células cobadas en las diferentes capas
del cuerno uterino izquierdo de la vaca

FASE DEL CICLO	No. DE VACAS	ENDOMETRIO	MIOMETRIO	PERIMETRIO
FOLICULAR	6	269.66±707.97	160.16±97.25	149.3±87.44
PROGESTACIONAL TEMPRANA	5	291.6±175.83*	184.6±139.17°	268±239.36+
PROGESTACIONAL TARDIA	5	218.8±86.23*	137.4±52.80°	192.6±124.80+

* Comparado con los valores obtenidos en el endometrio en la fase folicular

° Comparado con los valores obtenidos en el miometrio en la fase folicular

+ Comparado con los valores obtenidos en el perimetrio en la fase folicular

DISCUSION

El estudio de los cambios en el útero de los animales domésticos es de gran interés debido al papel que juega este órgano en la reproducción animal. Se acepta en términos generales que las variaciones cíclicas en -- oviducto, útero y vagina son debidas a la acción de las hormonas ováricas sobre los diversos elementos tisulares de estos órganos. Durante algún --- tiempo se ha postulado que los estrógenos son en cierta forma responsables de la hiperemia que se presenta en los órganos del aparato reproductor durante el período de estro, ya que, posterior a su administración es posible observar una muy rápida respuesta uterina que consiste en una intensa hiperemia. Diversos autores (11, 15, 25, 26), en estudios hechos en diferentes animales de laboratorio han postulado que aparentemente los estrógenos de alguna manera determinan la liberación de histamina contenida en los gránulos de las células cebadas, lo cual trae como consecuencia la --- edematización del aparato genital femenino, por la acción de ésta sobre -- los vasos sanguíneos uterinos. A la histamina también se le ha adjudicado una participación en los fenómenos que conforman una reacción decidual. -- Por otro lado se sabe (30) que la hormona luteinizante (LH) es capaz de -- provocar cambios en la vasculatura ovárica semejantes a los que ocasiona -- la histamina.

Los resultados del presente trabajo muestran que las células cebadas en el útero de la vaca, tienden a presentarse en mayor cantidad en -- el endometrio seguido en orden decreciente por el perimetrio y miometrio. A diferencia del útero de Hamster y de rata en los cuales únicamente ha sido reportada la población de células cebadas en endometrio y miometrio, siendo en este último sitio donde normalmente se encuentra la mayor cantidad ---- (5, 15). Debe ser destacado que un buen número de células cebadas están -- relacionadas con los vasos sanguíneos presentes en las diversas capas ute-

rinas, y como ha sido sugerido por DeFeo (5) esta asociación podría ser de importancia para el control de la permeabilidad del útero.

De acuerdo con los resultados obtenidos, la distribución y número de células cebadas en el útero de la vaca adulta es igual tanto en el cuerno uterino izquierdo como en el derecho, a semejanza de lo que ocurre en -- otras especies estudiadas (11, 15). En cambio a diferencia de dichas especies la variación en la población de estas células en el útero bajo diferentes condiciones hormonales no son significativas en la vaca. Estos resultados nos permiten suponer dos posibles interpretaciones: por un lado podría pensarse que las células cebadas de los animales domésticos no poseen receptores específicos de estrógenos para desencadenar su degranulación, ya que los procesos implicados en el fenómeno de implantación de los mamíferos domésticos no son semejantes a los de la rata y hamster. Como es sabido en el hamster, la rata y otros mamíferos, la formación de un deciduoma en el endometrio es un requisito indispensable para que se lleve a cabo el proceso de la implantación, hecho que no ocurre en la vaca. Ha sido sugerido -- (11) que la histamina liberada por las células cebadas después del tratamiento con estrógenos podría tener un papel en el control del flujo de los metabolitos necesarios para la formación del deciduoma en las especies que se presenta. De esta manera la degranulación masiva de las células cebadas en un momento dado del ciclo, no es un evento necesario en la vaca, puesto que la formación de una decidua nunca se lleva a cabo en esta especie.

Por otro lado podría pensarse que el hecho de que siempre se encuentre a lo largo del ciclo una población constante de células cebadas en el útero de la vaca, esté relacionado con las variaciones de los niveles -- de estrógenos a lo largo del ciclo estral en esta especie. Como puede observarse en la figura # 1 en la rata sólo hay un incremento de los -----

niveles de estrógenos en las etapas previas a la ovulación, en cambio en la vaca además del incremento previo a la ovulación existe un incremento temporal alrededor de los días 7, 8 y 9 del ciclo, esto podría provocar la --degranulación de un cierto número de células cebadas hacia la mitad del --ciclo lo cual determinaría una población constante de células cebadas de--tectables en el útero a todo lo largo del ciclo estral.

Por último, cabe hacer notar que en la rata, la presencia de macrófagos que contienen restos de eritrocitos (los cuales son demostrados con la reacción de azul de Prusia), se les ha relacionado con tejido cicatricial (5) y se dice que estos macrófagos con hemosiderina pueden permanecer en el útero de la rata por lo menos un año después de haberse provocado el daño que originó tal cicatriz. En la vaca, la presencia de estas células en la mucosa endometrial podría deberse a múltiples factores, sin --embargo actualmente lo que pudiera decirse cae en el terreno de la especulación.

CONCLUSIONES

- El empleo de formol al 10% en solución acuosa es un fijador útil cuando se pretende poner de manifiesto células cebadas en útero de vaca con la técnica de Unna.
- Aparentemente no hay variabilidad significativa en la población de células cebadas en el útero de vaca bajo diferentes condiciones hormonales.
- No existe diferencia significativa entre la población de mastocitos del cuerno uterino izquierdo y derecho.
- La población de células cebadas en el útero de vaca es mayor en endometrio, intermedia en perimetrio y menor en miometrio.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Banks, W.J.: Histology and Comparative Organology: a text-atlas Williams and Wilkins Company, Baltimore U.S.A. 1974 .
- 2.- Benditt, E.P., Wong, R.L., Arase, M. and Roeper, E.: 5-hydroxytryptamine in mast cells. Proc. Soc. exp. Biol., 90:303-304 (1955). Citado por M. Fernex (9).
- 3.- Brandon, J.M. and Bibby, M.C.: A study of changes in uterine mast cells during early pregnancy in the rat. Biol. Reprod. 20: 977-980. (1979).
- 4.- Cole, H.H.: A study of the mucosa of the genital tract of the cow, with special reference to cyclic changes. Amer. J. Anat. 46: 261-301 (1930).
- 5.- DeFeo, V.J.: Desidualization. En: "Cellular Biology of the Uterus" (R. Wynn, Ed). Apleton - Century - Crofts: New York 1967.
- 6.- Derivaux, J.: Fisiopatología de la Reproducción e Inseminación Artificial de los Animales Domésticos. Ed Acribia, Zaragoza 1961.
- 7.- Espey Laurence L.: Ovulation as an inflammatory reaction-a-hypothesis. Biol. Reprod. 22: 73-106 (1980).
- 8.- Falck, B., Hystedt, T. Rosengren, E. and Stenflo, J.: Dopamin and mast cells in ruminants. Acta pharmacol. toxicol. Kbh. 21: 51-58(1964).
- 9.- Fernex, M.: The Mast Cells System. Williams and Wilkins Company, Baltimore U.S.A. 1967.
- 10.- Finn, C.A. and Porter, D.G.: The Uterus (Handbook in reproductive Biology) Ed Science London, England 1975.
- 11.- Gibbons, A.F.E. and Chang, M.C.: Number of Mast cells in the rat uterus with special reference to its relation to hormonal treatment and decidual response. Biol. Reprod. 6: 193-203 (1972).

- 12.- Hafez, E.S.E.: *Reproduction in Farm Animals*. 3ed Lea and Febiger. Philadelphia 1975.
- 13.- Hafez, E.S.E.: *Reproduction in Farm Animals*. 4 ed. Lea and Febiger. -- Philadelphia 1980.
- 14.- Ham, A.W.: *Tratado de Histología*. 7 ed. Ed. Interamericana México 1975
- 15.- Harvey, E.B.: Mast cell distribution in the uterus of cycling and pregnant hamsters. Anat. Rec. 148: 507-515 (1964).
- 16.- Jaques, L.B.: Heparin: And Old Drug with a New Paradigm. Science 206: 528-533 (1979).
- 17.- Junqueira, L.^C. y Carneiro J.: *Histología Básica*. 3ed. Ed. Salvat. Barcelona 1973.
- 18.- Kojima, Y. and Selander, U.: Cyclical changes in the fine structure of bovine endometrial gland cells. Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 104: 69-86 (1970).
- 19.- Lillie, R.D. and Fullmer Harold M.: *Histopathologic Technic an Practical Histochemistry*. 4 Ed. Mac Graw-Hill Book Company New York 1976.
- 20.- Lindner, H.R., Amsterdam, A., Salomon, Y., Tsafir, A., Nimrod, A., Lamprecht, S.A., Zor, U., and Koch, Y.: Intraovarian Factors in ovulation: Determinants of follicular response to gonadotrophins. J. Reprod. Fert. 51: 215-235 (1977).
- 21.- Luna, L.G.: *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces - Institute of Pathology*. 3ed. Mac Graw-Hill Book Company New York 1968.
- 22.- Mc Donald, L.E.: *Veterinary Endocrinology and Reproduction*. 3ed. Lea and Febiger. Philadelphia 1980.
- 23.- Marlton, U. and Lovell, J.E.: Cytology of the bovine uterine epithelium during the estrous cycle. Amer. J. Vet. Res. 29: 13-30 (1968).
- 24.- Moss, S., Wrenn, T.R. and Sykes, J.F.: Alkaline phosphatase, glycogen -

- and periodic acid-schiff-positive substances in the bovine uterus during the Oestrous cycle. Endoc. 55: 261-273 (1954).
- 25.- Rahima, A. and Soderwall, A.L.: Mast cells in uteri of pregnant young and senescent female golden hamsters. Biol. Reprod. 17: 523-526 (1977)
- 26.- Shelesnyak, M.: Inhibition of decidual cell formation in the pseudo-pregnant rat by histamine antagonists. Amer. J. Physiol., 170: 522-527 (1952).
- 27.- Shelesnyak, M. and Kraicer, P.F.: The role of strogen in nidation. En "Delayed Implantation" (A.C. Enders, Ed.), p p 265-279. Univ. Chicago Press, Illinois (1963).
- 28.- Short, R.V.: En: "Hormones in Reproduction", en reproduction in mammals (C.R. Austin and R.V. Short, Eds) Cambridge, University Press, Cambridge 1972.
- 29.- Sjoerdsma, A. Waalks; T.P. and Weissback, H.: Serotonin and histamine in mast cells. Science 125: 1202, (1957).
- 30.- Wurtman, R.J.: An effect of luteinizing hormone on the fractional perfusion of the rat ovary. Endocrinology 75: 927-933 (1964).

