

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LA HISTOMETRÍA DE LOS
ÓRGANOS GENITALES DE LA CONEJA NUEVA ZELANDA DE
DISTINTOS PARTOS, EN EL DÍA POSTERIOR AL DESTETE**

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

JOSÉ ALFONSO BANDA HERRERA

Asesores:

MVZ, Dr. Mario Pérez Martínez
MVZ, M en C. Jorge Hernández Espinosa

México, D. F.

2013



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
HIPÓTESIS.....	13
OBJETIVOS.....	14
MATERIAL Y MÉTODOS.....	15
RESULTADOS.....	20
DISCUSIÓN.....	29
CONCLUSIÓN.....	34
REFERENCIAS.....	35

DEDICATORIAS

A Marsha Banda, por ser la alegría de mi vida, inspiración y fortaleza.

A mis padres, Alfonso Banda y Graciela Herrera por su, apoyo, paciencia, consejos y enseñanzas. Gracias por creer en mi. Los quiero.

A mis hermanas, Brenda y Angélica por confiar en mi.

A mi hermano Victor simplemente por ser mi hermano.

A mis amigos Alan, Daniel, Joshua por todo lo que hemos vivido y compartido.

A Nancy Mejía por llenar de alegría mi vida.

A quien haya podido olvidar.

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores por su dedicación y apoyo, gracias.

Gracias al Maestro en producción animal Reyes López Ordaz por su asesoría en el análisis estadístico de los datos.

Se agradece el apoyo técnico del Sr. Francisco López del Laboratorio de Biología Tisular de la Reproducción "Rosa E. Lavielle", en el procesamiento de tejidos.

Al Departamento de Morfología de la Facultad de Medicina Veterinaria, de la Universidad Nacional Autónoma de México.

La dirección de la presente tesis estuvo a cargo del Dr. Mario Pérez Martínez, como parte de sus actividades realizadas durante el período sabático que le fue autorizado por el H. Consejo Técnico de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM (año 2012).

Este estudio fue parcialmente financiado por el proyecto PAPIME (PE201711), DGAPA-UNAM.

RESUMEN

JOSÉ ALFONSO BANDA HERRERA. Estudio comparativo de la histometría de los órganos genitales de la coneja Nueva Zelanda de distintos partos, en el día posterior al destete (bajo la dirección de MVZ, Dr. Mario Pérez Martínez y MVZ, M. en C. Jorge Hernández Espinosa).

El objetivo del presente estudio fue determinar las características histométricas del ovario, útero y vagina de conejas Nueva Zelanda de primero, segundo y tercer parto al día posterior al destete mediante histometría óptica digital. Se formaron tres grupos de conejas de primero (grupo 1), segundo (grupo 2) y tercer parto (grupo 3), además se incluyó un grupo de conejas prepúberes (8 semanas de edad) de la misma raza que se utilizó como grupo testigo. Las hembras se sacrificaron el día posterior al destete de los gazapos, el cual fue el día 30 posparto. Los tejidos se procesaron con la técnica de inclusión en parafina, se hicieron cortes de tejido de 6 μm de grosor y se tiñeron con la tinción de Hematoxilina-Eosina y Tricrómica de Gomori. Para realizar las mediciones se utilizó la lente objetivo 10X y 40X de un microscopio óptico (Motic BA310[®]) conectado a una cámara para microscopía digital (Moticam 2300[®]) y un software para análisis de imágenes. En las imágenes capturadas se midió el diámetro de los folículos ováricos de tipo primario, secundario y terciario, la altura de la lámina epitelial del endometrio, el epitelio de las glándulas endometriales, el grosor de la lámina propia de tejido conectivo del endometrio, la capa muscular del útero, el grosor de la lámina epitelial de la vagina en su porción craneal y caudal. Con base en los resultados obtenidos se concluye que algunos parámetros histométricos de los ovarios y úteros de las conejas reproductoras en el día posterior al destete varían con relación al número de partos y que el estímulo del destete es un factor clave en el desarrollo de los cambios en los distintos parámetros evaluados. Se considera necesario continuar con el estudio del efecto que tiene el tiempo al destete de la camada, con relación al número de partos de la coneja reproductora, con relación a su productividad posterior, en distintos sistemas de producción.

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA HISTOMETRÍA DE LOS ÓRGANOS GENITALES DE LA CONEJA NUEVA ZELANDA DE DISTINTOS PARTOS, EN EL DÍA POSTERIOR AL DESTETE

INTRODUCCIÓN

En la mayoría de las especies domésticas la función ovárica presenta una actividad de tipo cíclico bien definida, sin embargo, en la coneja es discutible la existencia de un ciclo estral como tal.^{1,2} Otra característica fisiológica de esta especie es que la ovulación es inducida por el coito.^{3,4,5}

El nombre científico del conejo doméstico es *Oryctolagus cuniculus*. Taxonómicamente pertenece a los mamíferos del orden *Lagomorpha* y a la familia *Leporidae*.^{6,7,8,9,10}

El conejo como modelo animal es de gran importancia debido a la amplia variedad de tópicos de investigación en los que es utilizado¹¹ como: fertilización *in vitro*, embriología, organogénesis, neurofisiología y oftalmología.¹²

Este animal también es aprovechado en estudios relacionados con la fisiología pulmonar, cardiovascular, metabólica, de la respuesta inmune y en la evaluación de nuevos fármacos.^{7,13,14}

Sobre otros modelos animales, el conejo es preferido para el estudio de la fisiología de la reproducción, por sus características de prolificidad y adaptabilidad a distintas condiciones de manejo.²

Dentro de las ventajas como modelo animal, destacan: su fácil manejo debido a su talla pequeña, requiere de poco personal para su cuidado y su ciclo reproductivo es corto.¹⁵

En el estudio de eventos complejos como la ovulación, la implantación, la gestación y el parto resulta un excelente modelo por sus particularidades reproductivas, al ser una especie de ovulación inducida, el investigador establece con precisión la duración¹⁶ y seguimiento de los eventos fisiológicos mencionados.¹⁷

Por otra parte, el tipo de placentación de la coneja, es morfológicamente similar a la del humano,^{7,17,18} por lo que es utilizado como modelo para estudios sobre el desarrollo embrionario y fetal.¹⁹

ASPECTOS ANATÓMICOS Y FUNCIONALES DE LOS ÓRGANOS GENITALES DE LA CONEJA

El aparato reproductor de la hembra, está constituido por 2 ovarios, 2 oviductos, 2 úteros, doble cérvix, vagina y genitales externos.^{7,8,10,20,21,22}

A diferencia de otras especies, el útero de la coneja no presenta un cuerpo uterino¹⁸ por lo que tiene dos cuernos uterinos de gran longitud y que son independientes el uno del otro.²¹ Cada uno tiene su propio cuello que mide entre 7 a 10 cm.²²

Los ovarios de la coneja son órganos pares, aplanados, de forma ovoide y alargados,²³ se localizan en la cavidad pélvica, en la región sublumbar y miden entre 1 a 1.5 cm de longitud,²² su peso oscila entre 0.5 a 0.75 g.²⁰

En el tejido ovárico se llevan a cabo diversas funciones como: la síntesis de las hormonas sexuales: estrógenos (ES) y progesterona (P₄), el desarrollo de los folículos que alojan a los ovocitos hasta que ocurre la ovulación.

Histológicamente el parénquima ovárico presenta dos zonas corteza y médula. En la corteza ovárica se encuentran los folículos en diversos estadios de desarrollo. La médula del ovario está constituida en mayor proporción por tejido conectivo. En el estroma hay vasos sanguíneos, vasos linfáticos y nervios.^{20,21}

El parénquima ovárico de las conejas adultas, presenta en todo momento, folículos en distintos estadios de desarrollo y múltiples cuerpos lúteos.²

La estructura y función del útero de la coneja, como en las demás especies de mamíferos domésticos, están regulados por el estradiol y la progesterona (P₄), por lo que las variaciones en la concentración de ambas hormonas inducen cambios en la morfología de los órganos genitales durante el ciclo reproductivo.^{5,24,25}

La pared uterina está conformada por tres capas de tejido: endometrio, miometrio y perimetrio.

El endometrio presenta un epitelio de revestimiento de tipo cilíndrico simple que varía por la acción del ciclo ovárico. Debajo de éste se encuentra la lámina propia submucosa de tejido conectivo. Es precisamente la lámina propia el sitio en el que se encuentran y desarrollan las glándulas endometriales.

Debido al coito, en el endometrio ocurren una serie de cambios morfológicos, dos días después del estímulo coital, el número de divisiones celulares aumenta en células epiteliales y glándulas endometriales. Es hasta el cuarto día posterior al coito cuando la formación de los pliegues endometriales es visible.

El miometrio está constituido por tejido muscular liso dispuesto en sentido circular (interno) y longitudinal (externo), el perimetrio es de tejido conectivo y mesotelio.²¹

La vagina es el órgano copulatorio de la hembra y el sitio en el que se deposita el semen al momento del apareamiento. La coneja sexualmente madura, presenta

una vagina de gran longitud, entre 14 a 19 cm,²⁶ que funciona como sitio reservorio de espermatozoides y desempeña un papel importante en el mantenimiento de la viabilidad espermática.²⁷

Histológicamente, la pared de la vagina consta de tres capas: la mucosa, la muscular del órgano y la adventicia.²⁸

La mucosa presenta un epitelio de revestimiento cuyas características se modifican dependiendo de la región anatómica del órgano y del estadio reproductivo de la hembra. Se sabe que más de dos tercios de la estructura de la vagina de la coneja está cubierta por un epitelio de células cilíndricas altas. La transición del epitelio cilíndrico a plano estratificado ocurre a nivel de la sínfisis púbica y sólo el tercio caudal de la pared vaginal presenta epitelio estratificado plano.²⁷

Por su posición anatómica, a la vagina caudal se le conoce como uretro-vagina y a la proximal cérvico-vagina. La uretro-vagina consta de un epitelio estratificado plano en comparación a la cérvico-vagina que consta de un epitelio monoestratificado columnar. Al igual que el útero, la vagina experimenta cambios histológicos e histoquímicos que están relacionados con la concentración de las hormonas sexuales esteroideas.²⁶

La vulva es el órgano externo del tracto genital de la hembra. En la coneja presenta cambios en su coloración relacionados con la receptividad sexual durante el ciclo ovárico.^{28,29}

REGULACIÓN DEL EJE HIPOTÁLAMO-HIPÓFISIS-OVÁRICO

El eje hipotálamo-hipófisis-gonadal, controla el ciclo ovárico mediante un conjunto de mecanismos complejos de naturaleza neuroendócrina.³⁰

La coneja presenta ovulación de tipo inducida o refleja, debido a la estimulación neuroendócrina que desencadena el coito, lo que induce la liberación hipotalámica de neuropéptidos (GnRH) y catecolaminas (adrenalina).³¹

La hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) es un decapeptido, que controla la liberación de las gonadotropinas hipofisarias: la hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH); glucoproteínas con cadenas α y β . Ambas gonadotropinas son sintetizadas por células cromófilas basófilas (gonadotropos) en la adenohipófisis.³²

La ovulación se inicia con la secreción pulsátil de GnRH,³³ que desencadena la liberación tónica de LH en la adenohipófisis,³⁴ y cuando alcanza su máximo nivel de concentración, entre 90 a 120 minutos,³⁵ ocurre la ovulación,³⁶ evento central del ciclo ovárico.³⁷

La LH actúa sobre las células de la teca interna de los folículos ováricos secundarios y terciarios en desarrollo, donde se estimula la síntesis de andrógenos. En tanto, la FSH estimula en las células de la granulosa la conversión de andrógenos a estrógenos (ES). La enzima aromatasa tiene como función transformar los andrógenos sintetizados en las células de la teca interna a estradiol.³²

La función reproductiva se encuentra bajo el control del eje neuroendócrino y pueden modificarla factores de naturaleza genética, nutricional y de manejo.³⁸

En tanto la coneja no se encuentre gestante, el desarrollo folicular ovárico se lleva

de manera continua en oleadas, y la ovulación ocurre de 9 a 10 horas después de que se presenta el pico de LH.^{8,39}

La progesterona (P₄), también participa en la maduración de las glándulas endometriales, en la implantación del blastocisto y favorece el desarrollo de la gestación.⁴⁰

Dentro de las acciones de los ES destacan las que ejercen en el tejido vascular acompañado del aumento de la permeabilidad de los vasos sanguíneos, aumento del peso húmedo del útero,²⁵ inducción de la proliferación celular⁴¹ y el aumento de la permeabilidad de la mucosa.⁴²

La existencia de receptores de leptina en ovario, oviducto, hipotálamo y adenohipófisis es un indicativo de que esta hormona participa en la mayoría de las acciones regulatorias a diferentes niveles del eje hipotálamo-hipófisis-ovárico de la coneja.^{39,43,44}

CICLO OVÁRICO Y DESARROLLO FOLICULAR

Como se mencionó anteriormente, la coneja tiene ovulación inducida o refleja y ocurre aproximadamente entre 9 a 10 horas después del coito⁸ y a partir de las 17 semanas de vida su tasa de ovulación aumenta.^{29,45} La ovulación también puede ser inducida por la administración de: la hormona luteinizante (LH), la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y la gonadotropina coriónica equina (eCG).⁴⁶

Una de las funciones centrales de los folículos ováricos es proveer al ovocito de las condiciones favorables para su desarrollo.²¹

Los cambios morfológicos y morfométricos en los órganos genitales de los individuos sexualmente maduros son consecuencia del efecto que ejercen las hormonas sexuales sobre el tejido reproductivo.

Brevemente, las estructuras del tejido ovárico de menor a mayor estadio de desarrollo está conformada de la siguiente manera: los folículos primordiales están constituidos por un ovocito rodeado por una capa de células planas; los folículos primarios presentan un ovocito que lo rodea una capa de células de forma cuboidal; los folículos secundarios tienen un ovocito con dos o más capas de células de la granulosa de forma cúbica que lo rodean y de las tecas en desarrollo. Por último, los folículos terciarios poseen un ovocito rodeado de numerosas capas celulares entre las que se forma una cavidad o “antro” que contiene un fluido denominado “líquido folicular” y en la parte periférica se localiza la capa de células de la teca interna y externa.⁴⁷

El cuerpo lúteo (CL) es la estructura ovárica con función endocrina temporal que se forma después de que ocurrió la ovulación. En el CL se sintetiza la hormona P₄. En la coneja, la síntesis de esta hormona comienza aproximadamente tres días después de la ovulación y continúa durante toda la gestación.^{5,32,48,49}

Una de las funciones de la P₄ es inhibir la contracción del tejido muscular uterino con lo que favorece la permanencia del embrión en el útero durante la gestación. Esta hormona también inhibe la receptividad sexual y el desarrollo de los folículos ováricos.^{20,50}

PUBERTAD

La maduración morfológica y funcional del tracto genital en las hembras se lleva a cabo de manera paulatina en la etapa previa a la pubertad.^{51,52}

La coneja inicia la pubertad, entre las semanas 10 y 11 de vida, sin embargo, este rango varía dependiendo de factores que pueden ser de tipo exógeno y endógeno.

Los estímulos de naturaleza auditiva, olfativa, visual y el tipo de manejo zootécnico que reciben las hembras repercuten positiva o negativamente en su eficiencia reproductiva.^{39,53}

Dependiendo de la raza, la pubertad inicia a diferentes edades; en las razas pequeñas inicia entre los 2 y 3 meses de edad; en las medianas, entre los 3 y 4; y en las gigantes, entre los 4 y 5 meses.⁵⁴

GESTACIÓN

La gestación en la coneja doméstica (*Oryctolagus cuniculus*) de raza Nueva Zelanda tiene una duración aproximada entre 31 a 32 días.¹⁰ Aproximadamente entre los días 25 al 27 de la gestación, la concentración de ES es de 60 pg/ml y la concentración de P₄ es de 9 ng/ml. Una característica reproductiva de la coneja es su capacidad fisiológica de mantener una gestación y lactación de manera simultánea.⁵⁵

Se sabe que dos días antes que ocurra el parto, sucede una disminución significativa en la concentración de P₄⁵⁶ y la concentración de ES aumenta.⁵⁷

PUERPERIO Y DESTETE

El puerperio es el período comprendido desde que ocurre la expulsión de la placenta al final del parto, hasta que concluye la involución del útero y se restituye la actividad fisiológica del útero y de los ovarios. Por lo que, durante la involución uterina disminuye el volumen y peso de éste órgano hasta que adquiere el tamaño y posición anatómica propias de la etapa no gestante.⁵⁸

De igual manera, los cambios estructurales que experimentan los órganos genitales durante el puerperio se llevan a cabo paulatinamente y son necesarios para que el sistema reproductor recupere su estado anatómico y funcional previo a la gestación, lo que permitirá que la hembra continúe satisfactoriamente su función reproductiva.^{59,60}

Se ha informado que en las conejas en lactación que reciben mayor aporte de grasa en la dieta y que tienen mayor número de partos, aumenta el tamaño de la camada y el peso de los gazapos al nacimiento.⁶¹

El destete de los gazapos depende del tipo de sistema de producción; en sistemas intensivos se realiza antes de los 30 días; en sistemas semi-intensivos entre los 35 y 40 días y en sistemas extensivos entre las 7 y casi 8 semanas.⁶²

La condición corporal de la coneja es un factor clave en su desempeño reproductivo.⁶³ Se sabe que el estado nutricional afecta la receptividad sexual y la fertilidad.⁶⁴ La nutrición es un factor de gran impacto en la eficiencia reproductiva. Un balance energético negativo en conejas jóvenes resulta en la disminución de su fertilidad.⁶⁵

RELACIÓN DEL COLOR DE LA VULVA CON LA RECEPTIVIDAD

La coloración de la vulva es un aspecto fácil de identificar en la granja y permite estimar la etapa del ciclo sexual en que se encuentra la coneja con relación a su receptividad sexual y fertilidad.⁴⁶

La concentración elevada de ES ocasiona aumento en el riego sanguíneo del tejido de los labios vulvares lo que hace que adquieran una coloración roja (eritema) y edematoso.⁶⁶

Se ha observado que existe correlación entre la concentración plasmática de estradiol, la receptividad sexual y la coloración de la vulva. En tanto la vulva adquiere una tonalidad rojiza, la receptividad sexual aumenta, mientras que una tonalidad blanca es indicativa de ausencia de receptividad al macho.⁶⁷

Por otra parte, se ha observado que en la coneja adulta la vulva de color blanquecino y de aspecto seco, presenta un útero de consistencia rígida y de mayor longitud. Mientras que en la hembra con vulva de coloración roja presenta un útero edematoso, con paredes engrosadas, acortado y de aspecto hiperémico.⁶⁸

Se ha informado que las hembras con vulvas de color blanquecino, rosa, rojo y violeta presentan una receptividad sexual al macho de 35, 55, 75 y 40%, respectivamente.⁶⁹

Las características de la dieta que reciben las conejas es otro factor que influye en la coloración de la vulva y en su receptividad sexual.⁷⁰

LA UTILIDAD DE LOS ESTUDIOS HISTOMÉTRICOS

La histometría es una metodología que ha sido de mucha ayuda en el campo de la biología de la reproducción para estudiar los cambios en la estructura de los tejidos bajo diferentes estadios fisiológicos y hormonales. La histometría óptica digitalizada tiene como objetivo realizar mediciones geométricas de regiones en una imagen digital. Permite, por ejemplo, estimar el área de una célula en particular, su perímetro, o incluso estimar la longitud de los ejes de la elipse que mejor describe su forma. Por lo que en términos generales el análisis de imágenes es un conjunto de técnicas destinadas a obtener datos relativos a un sistema objeto de estudio a partir de imágenes obtenidas con sistemas ópticos digitalizados.^{71,72} En Medicina Veterinaria y Zootecnia esta metodología aporta información que permite avanzar en la comprensión de la dinámica celular, tisular y del organismo, en las especies domésticas sometidas a distintos sistemas de crianza y de producción.

HIPÓTESIS

Existen diferencias en los parámetros histométricos medidos en los ovarios, útero y vagina de conejas Nueva Zelanda de primero, segundo y tercer parto en el día posterior al destete.

OBJETIVO GENERAL

Determinar las características histométricas del ovario, útero y vagina de conejas Nueva Zelanda de primero, segundo y tercer parto al día posterior al destete mediante histometría óptica digital.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Determinar el diámetro de los folículos ováricos de tipo primario, secundario y terciario de conejas de primero, segundo y tercer parto en el día posterior al destete.
2. Determinar la altura de la lámina epitelial del endometrio y del epitelio de las glándulas endometriales de conejas de primero, segundo y tercer parto en el día posterior al destete.
3. Determinar el grosor de la lámina propia submucosa de tejido conectivo del endometrio y de la capa muscular del útero de conejas de primero, segundo y tercer parto en el día posterior al destete.
4. Determinar el grosor de la lámina epitelial de la vagina en su porción craneal y caudal de conejas de primero, segundo y tercer parto en el día posterior al destete.

MATERIAL Y MÉTODOS

Obtención de tejido y fijación

Se utilizaron conejas de raza Nueva Zelanda blanca (*Oryctolagus cuniculus*), de primer, segundo y tercer parto, clínicamente sanas. A partir de estas conejas se formaron tres grupos: Grupo 1 (primer parto) (n=4), Grupo 2 (segundo parto) (n=4) y Grupo 3 (tercer parto) (n=4), respectivamente. El peso vivo de las hembras osciló en un rango de 3 a 4.5 kg. Se incluyó un grupo de conejas prepúberes (8 semanas de edad) de la misma raza que se utilizó como grupo testigo (n=3).

Los animales se obtuvieron de una granja cunícula ubicada en el municipio de Tlaxco, Tlaxcala, México, situada en el Altiplano Central de México, en un eje de coordenadas geográficas entre los 19° 36' 50", latitud Norte y 98° 07' 07", longitud Oeste. Se localiza a 2 540 msnm, el clima es templado subhúmedo, con régimen de lluvias de junio a septiembre; la temperatura máxima es de 22.9 °C y la mínima de 5.3°C.

Las hembras se sacrificaron el día posterior al que se realizó el destete de los gazapos. El destete de los gazapos se llevó a cabo al día 30 posparto.

El método de eutanasia utilizado fue la técnica de insensibilización por desnucamiento e inmediato desangrado por corte de la vena yugular con base a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999.⁷³

Previo al sacrificio, se revisó la coloración de la vulva que presentan las hembras, como un indicativo de su estadio reproductivo. Inmediatamente después, se realizó una incisión en la línea media abdominal para obtener asépticamente los órganos genitales (ovarios, úteros, vaginas), y a partir de éstos se obtuvieron

fragmentos de tejido de 1.5 cm³ que se fijaron con una solución de formalina amortiguada al 10% durante 72 horas.^{74,75}

Procesamiento de tejidos

Los tejidos se procesaron con la técnica de inclusión en parafina en el laboratorio de Biología Tisular de la Reproducción “Rosa E. Lavielle”, del Departamento de Morfología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. Para su preparación se utilizó un procesador de tejidos (Scientific Instruments AO T/P 8000[®]). Con un micrótopo (Leica RM2125RT[®]), se obtuvieron cortes de tejido de 6 µm de grosor, a partir de bloques de parafina. Algunos cortes se tiñeron con Hematoxilina y Eosina para verificar la integridad de la estructura tisular y otros con la tinción Tricrómica de Gomori para facilitar la observación del tejido conectivo y del tejido muscular, lo que facilitó su histometría microscópica.

Histometría

A partir de los fragmentos de tejido procesados de cada grupo se obtuvieron cinco cortes histológicos. Por corte histológico se capturaron ocho campos microscópicos para su análisis morfométrico.^{74,75}

Para realizar las mediciones de los tejidos se utilizó la lente objetivo 40X de un microscopio óptico (Motic BA310[®]) conectado a una cámara para microscopía digital (Moticam 2300[®]) y un software que permitió hacer el análisis computarizado de las imágenes (Motic Images Plus[®], versión 2.0).

En las imágenes capturadas se midieron los siguientes parámetros: el diámetro de los folículos ováricos de tipo primario y secundario, la altura de la lámina epitelial del endometrio y del epitelio de las glándulas endometriales y el grosor de la lámina epitelial de la vagina en su porción craneal y caudal.

Con la lente objetivo de 10X se capturaron imágenes para medir el diámetro de los folículos ováricos terciarios, el grosor de la lámina propia de tejido conectivo del endometrio y de la capa muscular uterina.

Por campo microscópico, se realizaron dos mediciones de la altura de las células de la lámina epitelial, del grosor de la lámina propia de tejido conectivo y de la capa muscular del endometrio. También se hicieron dos mediciones por campo microscópico del grosor de la lámina epitelial de la vagina en su porción craneal y caudal. La medición de la altura del epitelio de las glándulas endometriales se realizó en cuatro ejes de cada glándula.

Análisis estadístico

Con las variables obtenidas se efectuó un análisis descriptivo, además del análisis no paramétrico de Kruskal Wallis para determinar si hay efecto entre los grupos, con el programa SAS, versión 9.0.

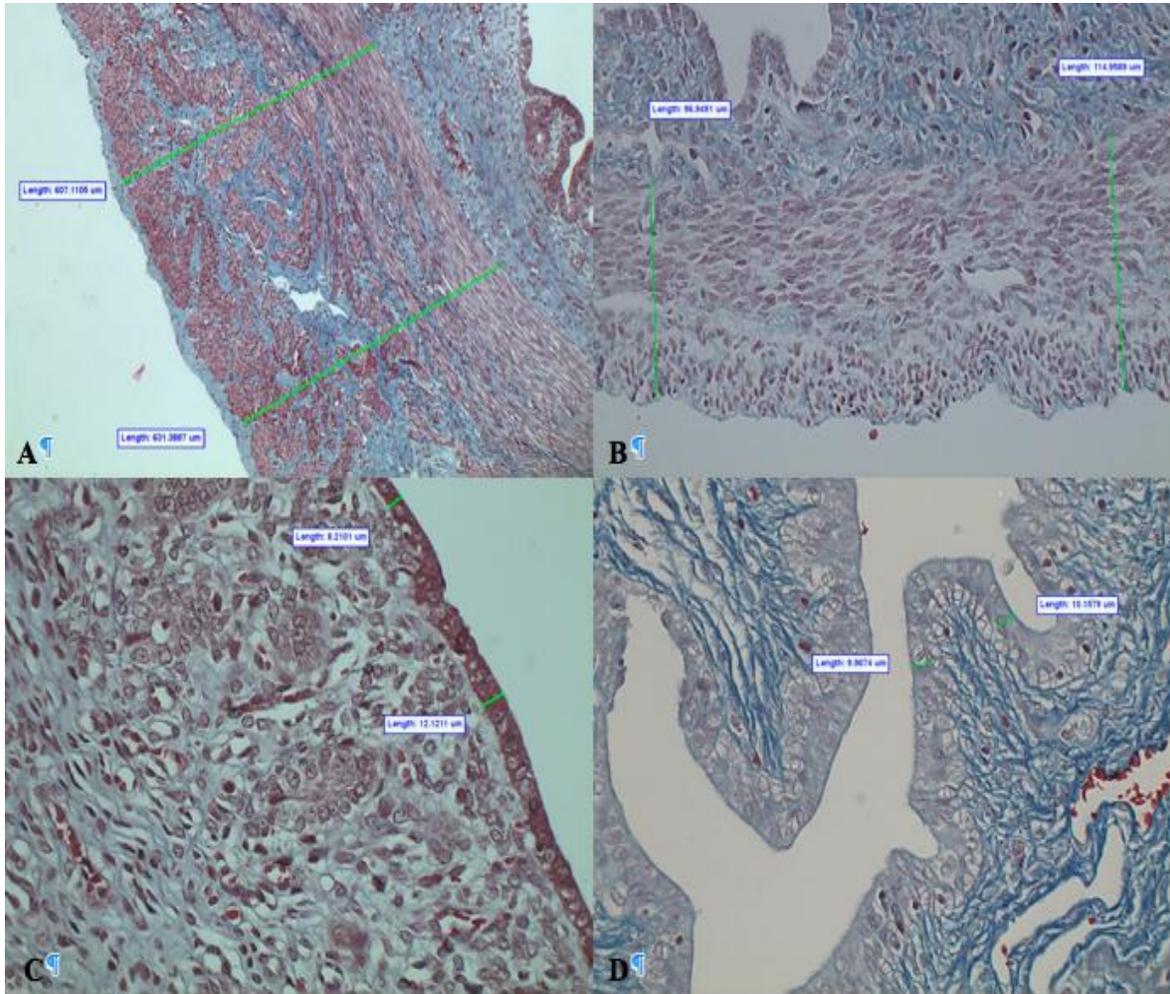


Figura 1. **A)** Imagen representativa de la medición de la capa muscular del miometrio de coneja de primer parto. Tricrómica de Gomori (100X), **B)** Imagen representativa de la medición de la capa muscular del miometrio de coneja prepúber. Tricrómica de Gomori (400X), **C)** Imagen representativa de la medición de la altura de la lámina epitelial del endometrio de coneja de tercer parto. Tricrómica de Gomori (400X), **D)** Imagen representativa de la medición de la altura de la lámina epitelial del endometrio de coneja prepúber. Tricrómica de Gomori (400X).

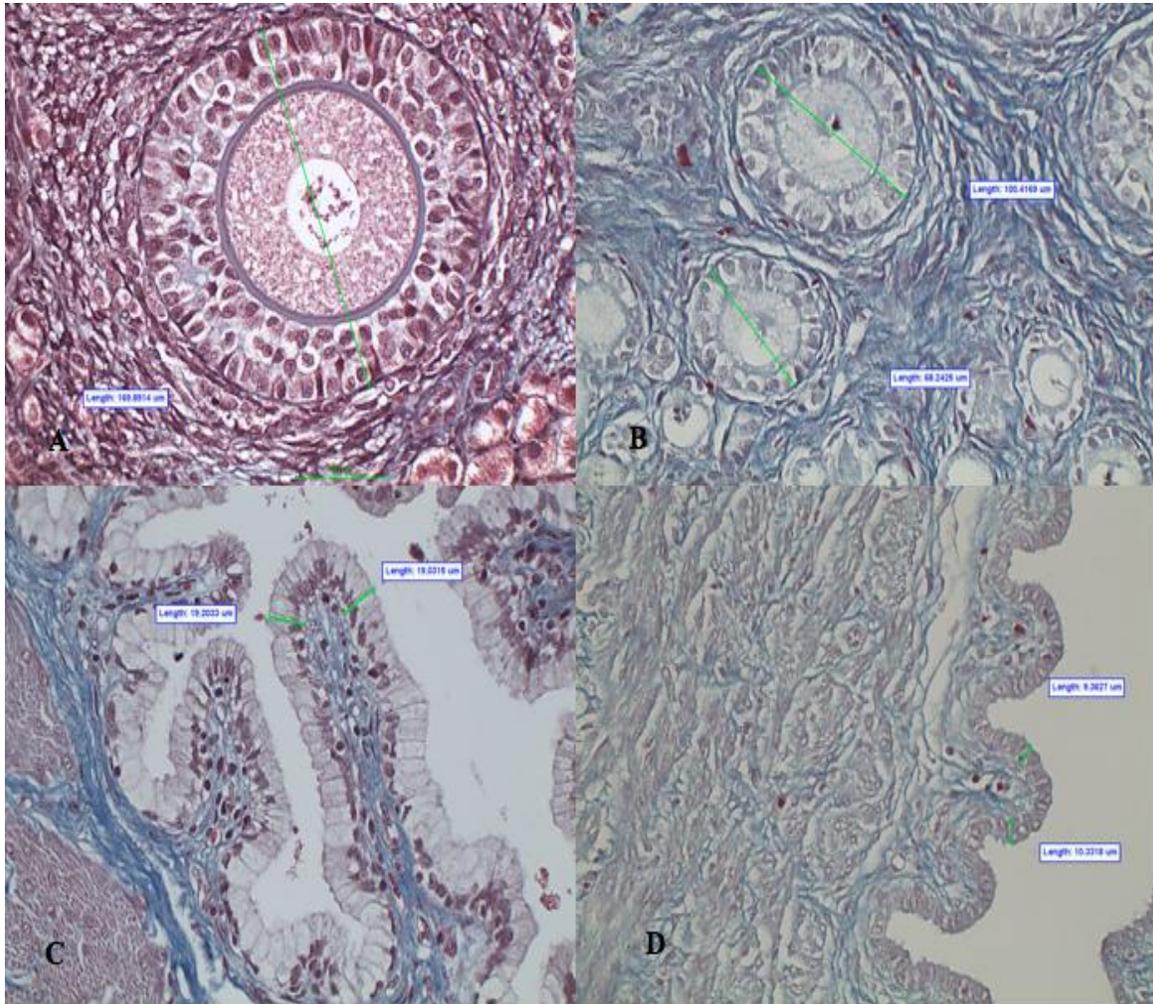


Figura 2. **A)** Imagen representativa de la medición del diámetro de un folículo secundario de una coneja de primer parto. Tricrómica de Gomori (400X), **B)** Imagen representativa de la medición del diámetro de un folículo secundario de coneja prepúber. Tricrómica de Gomori (400X), **C)** Imagen representativa de la medición del grosor de la lámina epitelial de la vagina en su porción caudal de coneja de tercer parto. Tricrómica de Gomori (400X), **D)** Imagen representativa de la medición del grosor de la lámina epitelial de la vagina en su porción caudal de coneja prepúber. Tricrómica de Gomori (400X).

RESULTADOS

Los resultados obtenidos se presentan en las figuras 3 a la 8 y en el cuadro 1, en las que se indican las diferencias significativas entre los grupos ($P < 0.001$). En las figuras los valores se expresan como promedio \pm EE.

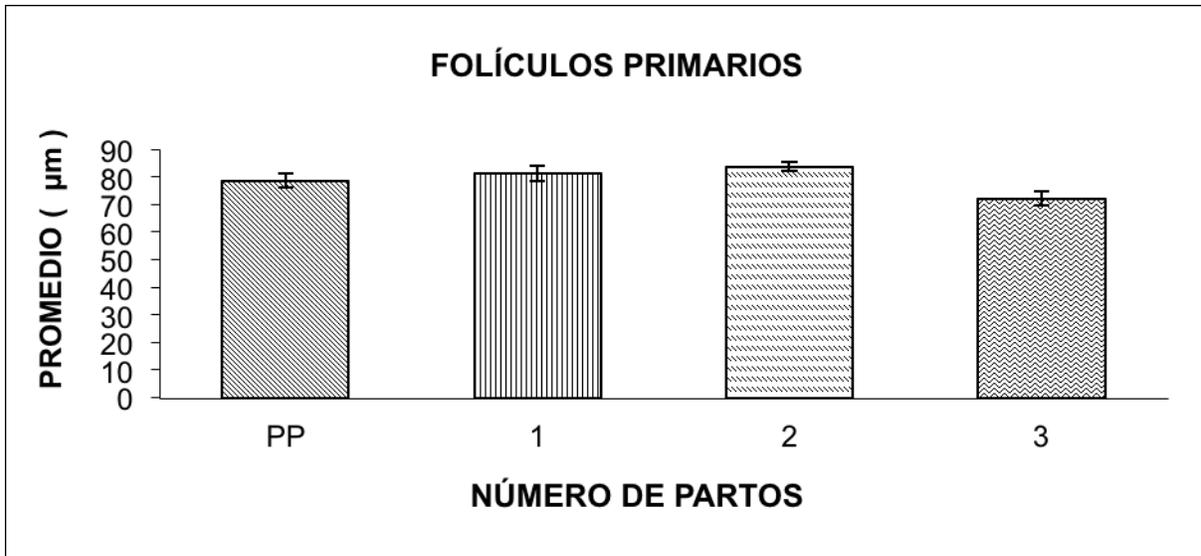


Figura 3 A. Diámetro de folículos primarios de hembras prepúberes y adultas de primero, segundo y tercer parto. Los valores se expresan como promedio \pm EE.

PP= hembras prepúberes (testigo).

No se encontró diferencia significativa entre los grupos ($P > 0.05$).

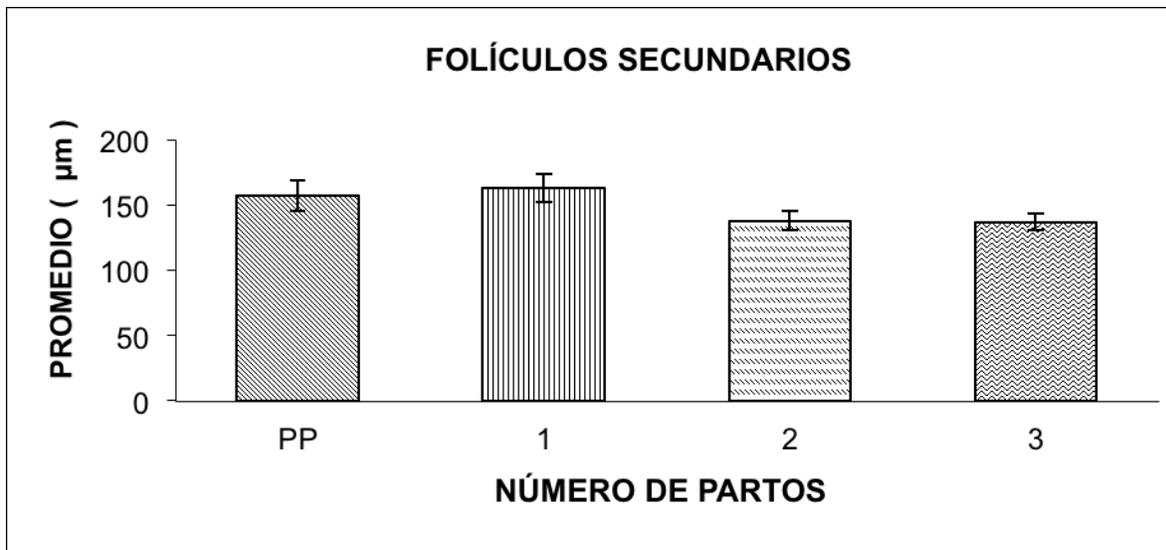


Figura 3 B. Diámetro de folículos secundarios de hembras prepúberes y adultas de primero, segundo y tercer parto. Los valores se expresan como promedio \pm EE. PP= hembras prepúberes (testigo).

No se encontró diferencia significativa entre los grupos ($P > 0.05$).

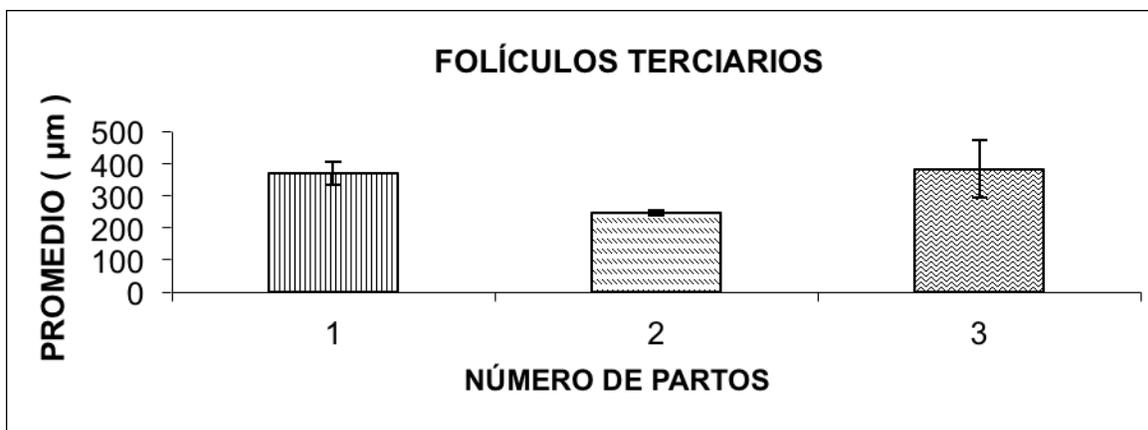


Figura 3 C. Diámetro de folículos terciarios de hembras de primero, segundo y tercer parto. Los valores se expresan como promedio \pm EE.

PP= hembras prepúberes (testigo).

No se encontró diferencia significativa entre los grupos ($P > 0.05$).

Cuadro 1

**NÚMERO TOTAL DE FOLÍCULOS OVÁRICOS CONTADOS EN HEMBRAS
PREPÚBERES Y ADULTAS DE PRIMERO, SEGUNDO Y TERCER PARTO**

GRUPO*	TIPO DE FOLÍCULOS		
	PRIMARIOS	SECUNDARIOS	TERCIARIOS
Prepúberes	28	16	0
Primer parto	30	14	3
Segundo parto	12	9	2
Tercer parto	12	9	3

*Los datos se presentan como número total de folículos presentes en cada grupo estudiado.

* Contados en 40 campos microscópicos.

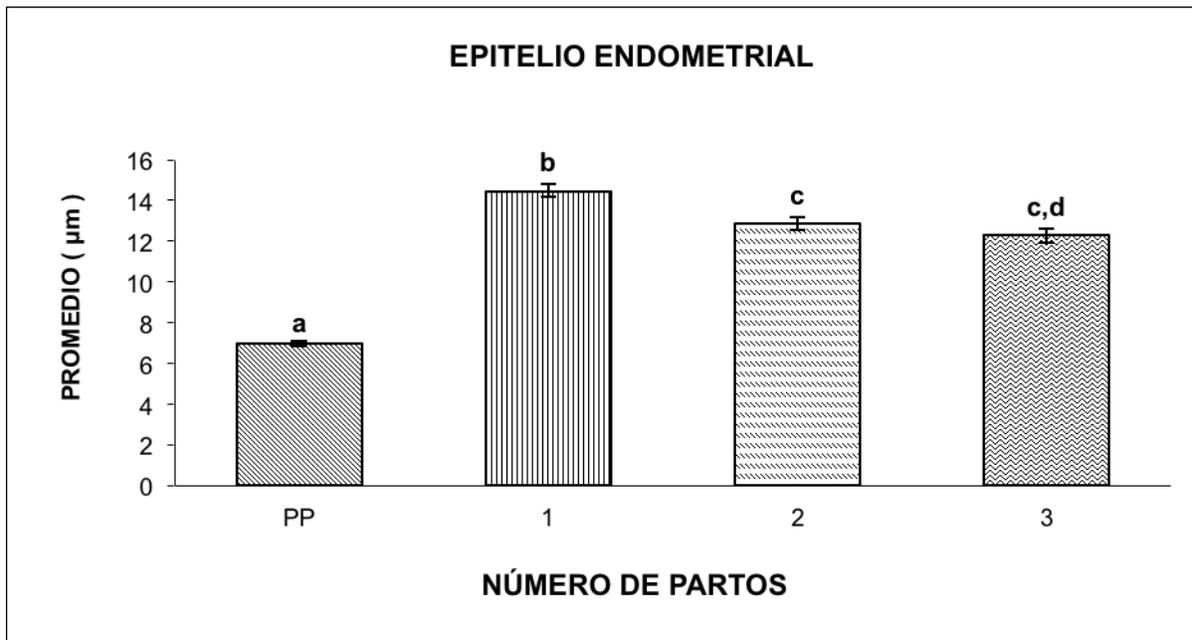


Figura 4. Altura de células de la lámina epitelial del endometrio de hembras prepúberes y adultas de primero, segundo y tercer parto. Los valores se expresan como promedio \pm EE.

PP= hembras prepúberes (testigo).

*Letras distintas indican diferencia significativa entre grupos ($P < 0.001$).

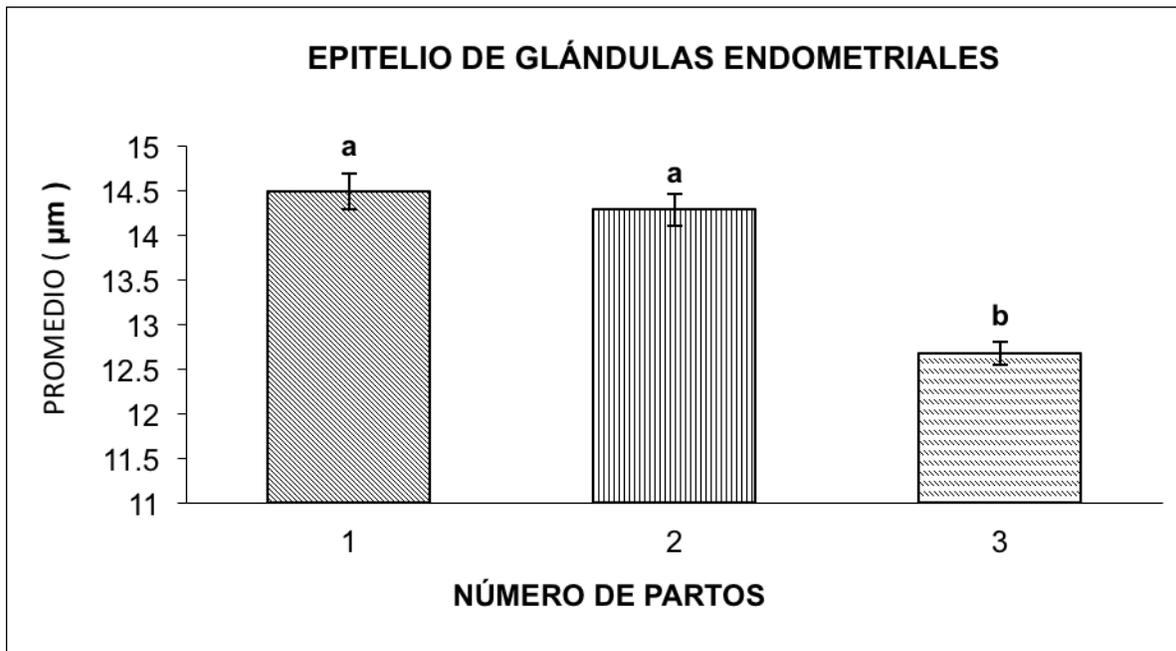


Figura 5. Altura de células del epitelio de glándulas endometriales de hembras de primero, segundo y tercer parto. Los valores se expresan como promedio \pm EE.

*Letras distintas indican diferencia significativa entre grupos ($P < 0.001$).

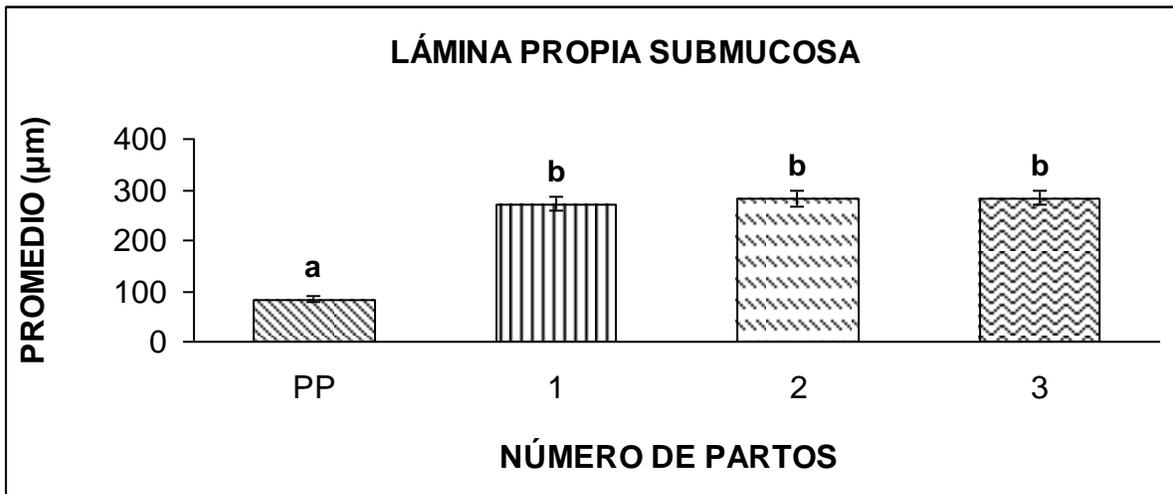


Figura 6. Grosor de la lámina propia-submucosa de tejido conectivo del endometrio de hembras prepúberes y adultas de primero, segundo y tercer parto. Los valores se expresan como promedio \pm EE.

PP= hembras prepúberes (testigo).

*Letras distintas indican diferencia significativa entre grupos ($P < 0.001$).

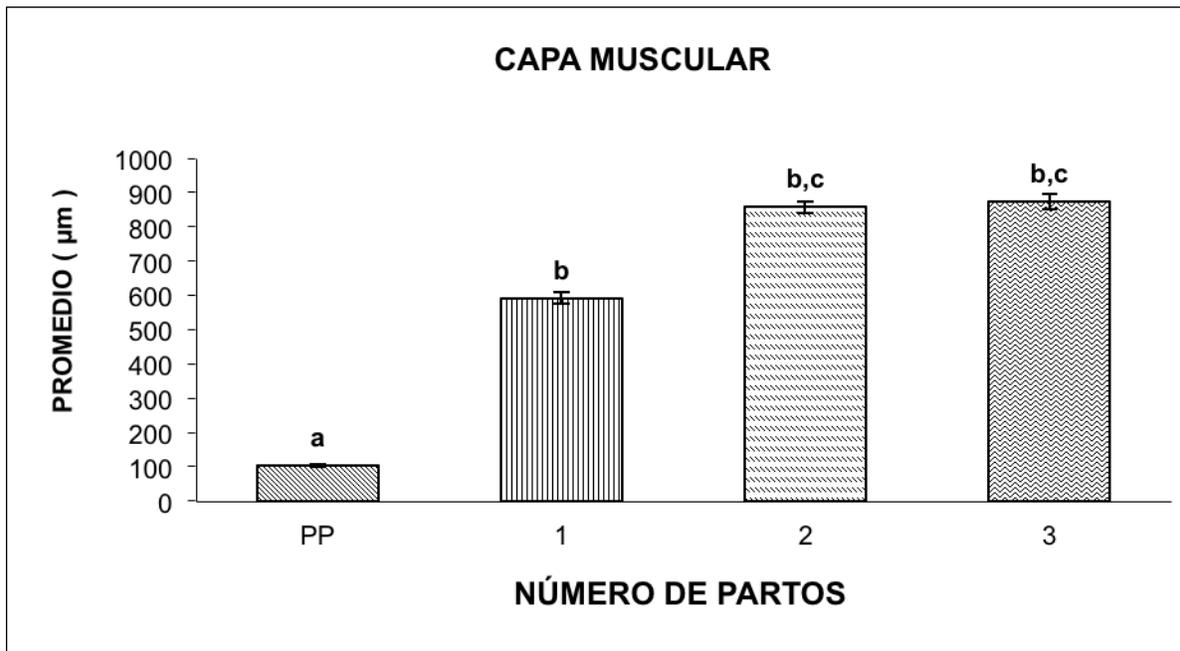


Figura 7. Grosor de la capa muscular del miometrio de hembras prepúberes y adultas de primero, segundo y tercer parto. Los valores se expresan como promedio \pm EE.

PP= hembras prepúberes (testigo).

*Letras distintas indican diferencia significativa entre grupos ($P < 0.001$).

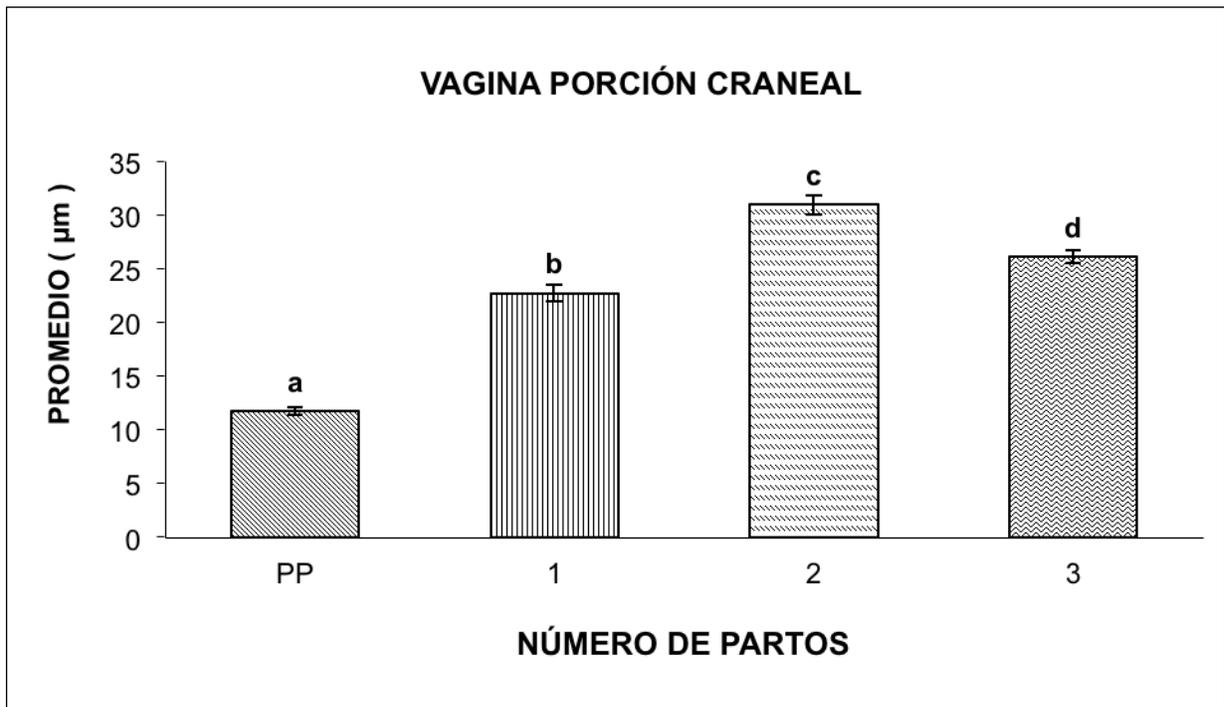


Figura 8A. Grosor de la lámina epitelial de la vagina en su porción craneal de hembras prepúberes y adultas de primero, segundo y tercer parto. Los valores se expresan como promedio \pm EE.

PP= hembras prepúberes (testigo).

*Letras distintas indican diferencia significativa entre grupos ($P < 0.001$).

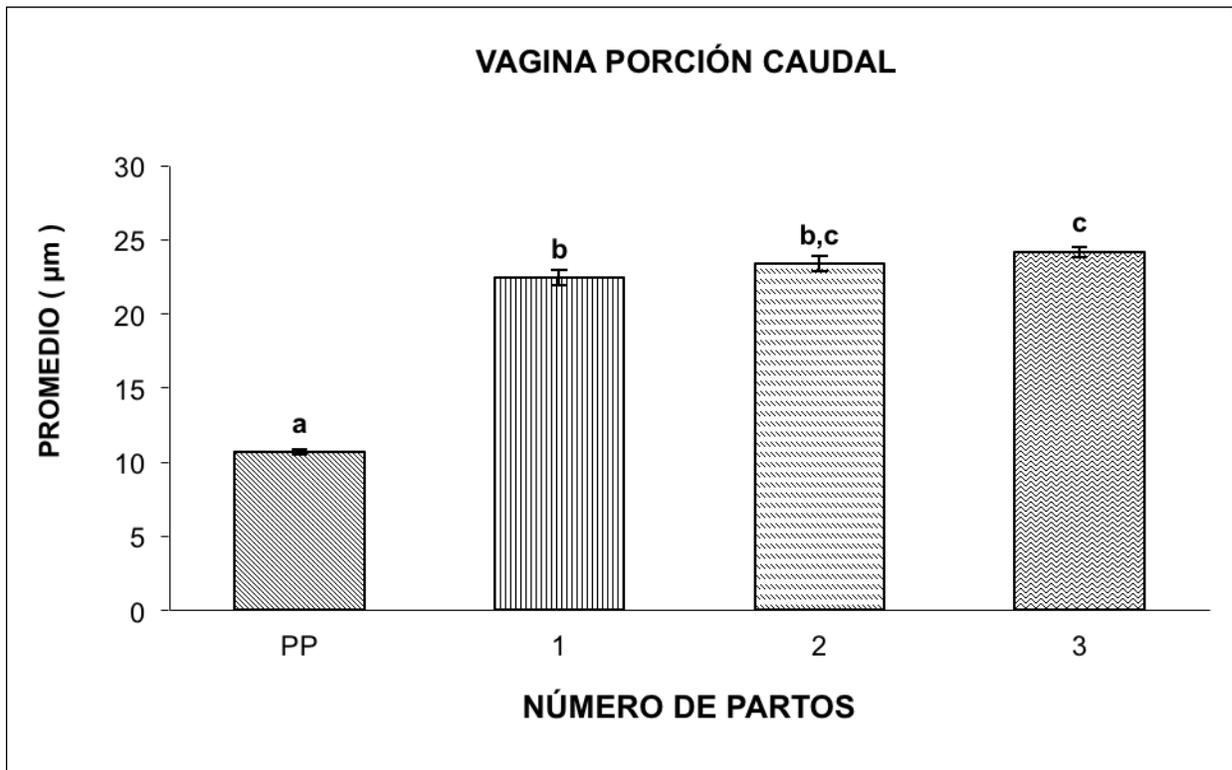


Figura 8B. Grosor de la lámina epitelial de la vagina en su porción caudal de hembras prepúberes y adultas de primero, segundo y tercer parto. Los valores se expresan como promedio \pm EE.

PP= hembras prepúberes (testigo).

*Letras distintas indican diferencia significativa entre grupos ($P < 0.001$).

DISCUSIÓN

Se ha sugerido que en las conejas primíparas la lactación concurrente con la gestación afecta el desarrollo folicular ovárico temprano⁷⁶. Es importante destacar que en el presente estudio se utilizaron hembras lactantes no gestantes con el propósito de estar en posibilidad de conocer el efecto del estímulo del destete sobre la morfometría del útero, vagina y ovario, en el día posterior a su realización. En un estudio de Ubilla *et al*,⁷⁷ separaron a la camada de la madre, 48 horas antes de ser inseminadas artificialmente en el día 11 de la lactación y observaron que 24 horas después de separar la camada de la madre disminuyó la concentración plasmática de prolactina y a las 48 horas aumentó la concentración de 17β estradiol respecto a la concentración presente antes de la separación. Este cambio en el perfil hormonal de la hembra refleja los efectos a corto plazo que tiene la suspensión del estímulo de la succión del gazapo sobre la función ovárica. La presencia de folículos ováricos de tipo primario, secundario y terciario en las hembras adultas de primero, segundo y tercer parto evidenció la existencia de actividad ovárica en todos los grupos con un mayor número de folículos de tipo primario y secundario en las hembras de primer parto con respecto al grupo de segundo y tercer parto. Como era de esperarse, en algunos campos microscópicos no se observó la presencia de folículos debido a que dichas estructuras no presentan una distribución homogénea dentro del estroma ovárico. El tejido uterino posee receptores a estrógenos (ES),⁷⁸ por lo que cuando aumenta la concentración de ES durante la etapa de desarrollo folicular ovárico también aumenta la masa y el peso húmedo del tejido uterino. Después del destete de los gazapos en las hembras aumenta la concentración de ES y disminuye la

concentración de prolactina, este ambiente hormonal induce el desarrollo folicular ovárico y la receptividad sexual.⁷⁷

Es de llamar la atención que en los ovarios de las hembras prepúberes también se observaron folículos de tipo primario y secundario pero no hubo presencia de folículos terciarios, hallazgo que indica la existencia de actividad ovárica temprana en esta especie en el período prepúber. Al respecto, se sabe que los ES participan en el desarrollo morfogénica de los ovarios y el útero,⁷⁸ por lo que el aumento en su concentración en el período cercano a la pubertad induce un incremento en el índice de proliferación celular en el tejido reproductivo. Esto se ha corroborado en estudios en los que se observó que al inicio de la actividad reproductiva de la coneja joven aumentan de manera significativa las dimensiones de los órganos genitales, principalmente en la etapa de transición previa a la pubertad con relación al peso vivo de la hembra.⁷⁹

En el día posterior del destete de la camada no se encontraron diferencias significativas en el diámetro que presentaron los folículos primarios y secundarios de las hembras prepúberes y adultas de primero, segundo y tercer parto, por lo que el número de partos no influyó sobre este parámetro histométrico. Al comparar el diámetro de los folículos terciarios de las hembras de primero, segundo y tercer parto, tampoco se encontraron diferencias significativas. Por otra parte, como era de esperarse, no hubo presencia de folículos terciarios en los ovarios de hembras prepúberes. Estos resultados indican que el comportamiento de los cambios en las dimensiones de los folículos ováricos se conserva independientemente del número de partos y sugieren que se presenta el mismo patrón de comportamiento morfométrico independientemente de la edad de las hembras.

Al comparar la altura de las células de la lámina epitelial del endometrio de las hembras prepúberes y adultas, destaca el aumento significativo que presentan las células epiteliales del grupo de hembras de primero, segundo y tercer parto con respecto al grupo de hembras prepúberes. Es conocido que las células epiteliales que tienen mayor actividad secretora presentan mayor altura con relación a las de menor función secretora. El estudio de las diferencias en la altura del epitelio luminal uterino permite inferir el efecto que tiene el ambiente hormonal sobre la función de éste órgano. En este sentido, se sabe que los ES inducen la actividad secretora de las células epiteliales.⁸⁰ De acuerdo a lo informado por Ubilla *et al*,⁷⁷ al separar a la camada de la madre ocurre un aumento en la concentración plasmática de 17β estradiol, situación que explicaría la mayor altura de las células del epitelio endometrial observada en las hembras de primero, segundo y tercer parto en el día posterior al destete.

Respecto a la altura de las células del epitelio de las glándulas endometriales, no se encontraron diferencias significativas entre las hembras de primero y segundo parto, sin embargo, en las de tercer parto se presentó una disminución con respecto a las de primero y segundo parto. Este comportamiento sugiere que el desarrollo de las glándulas uterinas posterior al destete en las hembras de más de dos partos disminuye o al menor podría llevar más tiempo, lo que estaría relacionado con una menor capacidad de síntesis de ES de los folículos ováricos. Bajo la influencia de los ES secretados por los folículos ováricos, el endometrio experimenta cambios cíclicos de manera paulatina que tiene como fin preparar al útero para una posible recepción del óvulo fecundado². La ausencia de glándulas endometriales en el grupo de hembras prepúberes indica que la capacidad de

biosíntesis de ES de los folículos ováricos aun es limitada, o al menos, todavía no es suficiente para inducir la morfogénesis glandular.

Las diferencias encontradas en el grosor de la lámina propia submucosa de tejido conectivo del endometrio, entre hembras prepúberes y adultas (de primero, segundo y tercer parto), pone en evidencia que la acción de los ES es imprescindible para que se active la actividad mitótica de los fibroblastos del estroma endometrial. Si bien en los ovarios de las hembras prepúberes se observaron folículos en crecimiento, lo más probable es que éstos aun no se encontraban en plenitud de capacidad de biosíntesis de estrógenos, ya es conocido que la síntesis de las enzimas clave para la biosíntesis de los ES (aromatasa y otras) está directamente relacionado con la edad de la hembra que se aproxima a la pubertad plena. Las diferencias observadas en el grosor de la capa muscular del miometrio de hembras prepúberes y adultas denotan que éste tejido es sumamente sensible a la influencia de las hormonas sexuales y que su grosor se modifica con el número de partos. La variación en el grosor de la capa muscular fue drástica entre las hembras prepúberes y las adultas de primer parto, sin embargo, el aumento en el grosor fue aún mayor en las hembras de segundo y de tercer parto con respecto a las de primer parto. Es conocido que a mayor edad y número de partos la capacidad de los tejidos para recuperar su forma y tamaño disminuye, éste comportamiento está relacionado de manera implícita con el proceso de envejecimiento. La elasticidad y tonicidad del tejido uterino disminuye conforme la hembra envejece. En modelos de animales de laboratorio, se ha encontrado que este cambio está directamente relacionado con el aumento significativo en el contenido de la proteína colágena en el tejido uterino y existe

evidencia de que el depósito de colágena es estimulado por los ES a lo largo de la vida reproductiva de la hembra.^{81,82} De manera similar a lo que ocurre en el útero, el comportamiento del epitelio vaginal se caracteriza por su gran sensibilidad a los cambios en la concentración de los ES y progesterona (P_4) durante los distintos estadios reproductivos. Es bien conocido que algunas especies los cambios en el patrón de exfoliación de las células epiteliales son indicativos del estadio reproductivo de la hembra. La diferencia observada en el grosor de la lámina epitelial de la vagina en su porción craneal y caudal, entre el grupo de hembras prepúberes y adultas (de primero, segundo y tercer parto), muestra la influencia de un ambiente estrogénico en el post-destete en las hembras adultas, éstos cambios fueron más evidentes en la porción craneal de la vagina, lo que posiblemente se deba a que esta porción anatómica está provista de una mayor número de receptores a ES debido a su cercanía anatómica con el útero. Al comparar los tres grupos de hembras adultas se puede apreciar una tendencia al aumento del grosor de la lámina epitelial de la vagina en la medida en que es mayor el número de partos de las hembras. En conjunto, a partir de los resultados obtenidos en el presente estudio se concluye que las características histométricas de los ovarios y úteros de las conejas reproductoras en el día posterior al destete varían con relación al número de partos y que el estímulo del destete es un factor clave en el desarrollo de los cambios en los distintos parámetros evaluados. Hasta donde sabemos, este es el primer trabajo orientado al estudio de las características histométricas de los órganos genitales de la coneja Nueva Zelanda de distintos partos en el día posterior al destete.

CONCLUSIÓN

Se concluye que las características histométricas del útero: altura de células de la lámina epitelial del endometrio, altura de células del epitelio de glándulas endometriales, grosor de la capa muscular del miometrio y el grosor de la lámina epitelial de la vagina en su porción craneal y caudal de la coneja doméstica en el día posterior al destete varían con relación al número de partos. Con los resultados obtenidos se logra un avance en la comprensión de la dinámica celular, tisular y del organismo, en las especies domésticas bajo distintos sistemas de producción. Se considera necesario continuar con el estudio del efecto que tiene el tiempo de destete de la camada, con relación al número de partos, sobre la productividad posterior de la hembra reproductora bajo distintos sistemas de producción.

.

REFERENCIAS

1. CONTRERAS JL, CONTRERAS-FERRAT LG, CANCHOLA E, AMBRIZ D, RIVERA JG, OLVERA J. Manual induction of lordosis and detection of oestrus in the domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). 9th World Rabbit Congress, 2008, 321-325, Verona, Italia.
2. NEILL JD, PLANT TM, PFAFF DW, CHALLIS JRG, KRETSER DM, RICHARDS JS, WASSARMAN PM. Knobil and Neill's Physiology of Reproduction. 3rd ed. St Louis,USA:Academic Press, 2006.
3. BAYER C, HOFFMAN KL, GONZÁLEZ FO. Neuroendocrine regulation of estrous behavior in the rabbit: Similarities and differences with the rat. *Hormones and Behavior* 2007;52:2-11.
4. AKASAWA MG, GOLDSCHMIDT MH, UNE Y, NOMURA Y. The immunohistochemical evaluation of estrogen receptor- α and progesterone receptors of normal, hyperplastic, and neoplastic endometrium in 88 pet rabbits. *Vet Pathol* 2008;45:217-225.
5. ANZALDÚA SR, CAMACHO-ARROYO I, CERBÓN MA. Histomorphological changes in the oviduct epithelium of the rabbit during early pregnancy. *Anat Histol Embryol* 2002;31:308-312.
6. HARTCOURT-BROWN F. Textbook of Rabbit Medicine. Burlington, London:Butterworth Heimemann, 2002.
7. SUCKOW AM, STEVENS AK, WILSON RP. The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster and Other Rodents. California, USA:Academic Press, 2012.

8. QUESENBERRY EK, CARPENTER WJ. Ferrets, Rabbits, And Rodents: Clinical Medicine And Surgery. 3rd ed. Saint Louis, USA:W.B. Saunders, 2012.
9. O'MALLEY B. Clinical Anatomy and Physiology of Exotic Species. Edinburgh, UK:W.B. Saunders, 2005.
10. FISCHER B, CHAVATTE-PALMER P, VIEBAHN C, SANTOS NA, DURANTHON V. Rabbit as a reproductive model for human health. *Reproduction* 2012;144:1-10.
11. FANG FZ, GAI H, HUANG ZY, LI GS, CHEN JX, SHI JJ *et al.* Rabbit embryonic stem cell lines derived from fertilized parthenogenetic or somatic cell nuclear transfer embryos. *Experimental Cell Research* 2006;312:3669-3682.
12. PÜSCHEL B, DANIEL N, BITZER E, BLUM M, RENARD JP, VIEBAHN C. The rabbit (*Oryctolagus cuniculis*): a model for mammalian reproduction and early embryology. *Cold Spring Harb Protoc* 2010;1:1-5.
13. FOOTE HR, CARNEY WE. The rabbit as a model for reproductive and developmental toxicity studies. *Reproductive Toxicology* 2000;14:477-493.
14. GRAVES KH, MOREADITH RW. Derivation and characterization of putative pluripotential embryonic stem cells from preimplantation rabbit embryos. *Mol Reprod Dev* 1993;36:424-433.
15. CALASANS-MAIA DM, MONTEIRO ML, ASCOLI OF, GRANJEIRO JM. The rabbit as an animal model for experimental surgery. *Acta Cirúrgica Brasileira* 2009;24(4):325-328.

16. SCHENCKER C, SOL M, ROJAS M. Relación útero-embionaria y su variación morfológica durante el periodo implantacional en conejo. *Int J Morphol* 2004;22(4):313-322.
17. FISCHER B, CHAVATTE-PALMER P, VIEBAHN C, SANTOS NA, DURANTHON V. Rabbit as a reproductive model for human health. *Reproduction* 2012;144:1-10.
18. FLECKNELL P, MEREDITH A. *BSAVA: Manual Of Rabbit Medicine And Surgery*. Quedgeley, Gloucester:British Small Animal Veterinary Association, 2006.
19. FISCHER B, CHAVATTE-PALMER P, VIEBAHN C, SANTOS NA, DURANTHON V. Rabbit as a reproductive model for human health. *Reproduction* 2012;144:1-10.
20. MC NITT JI, PATTON NM, LUKEFAHR SD, CHEEKE PR. *Rabbit Production*. 8th ed. Illinois, USA:Interstate, 2000.
21. LAUREMA A. *Adenoviral Gene Therapy And Fertility. Distributions Studies In Reproductive Organs And Risk Of Vertical Transmission In Female Rabbits And Rats*. Kuopio, Finland: Kuopio University Publications, 2008.
22. GONZÁLEZ RP, NASSAR MN, LÓPEZ-DAVALILLO ME, CORBACHO G T, BESCÓS SE, LEAL CC, FABRE GE. Cirugía laparoscópica ginecológica en coneja utilizada como modelo animal quirúrgico experimental. *Progresos de Obstetricia y Ginecología* 2008;51(5):301-306.
23. ZITNY J, MASSANYI P, TRAKOVICKA A, RAFAJ J, TOMAN R. Quantification of the ovarian follicular growth in rabbits. *Bull Vet Inst Pulawy* 2004;48:37-40.

24. VINCI A, BACCI B, BENAZZI C, CALDIN M, SARLI G. Progesterone receptor expression and proliferative activity in uterine tumours of pet rabbits. *J Comp Path* 2010;142:323-327.
25. TCHERNITCHIN A. Characterization of the estrogen receptors in the uterine and blood eosinophil leucocytes. *Experientia* 1988;32(1):240-242.
26. DAL BOSCO A, REBOLLAR PG, BOITI C, ZERANI M, CASTELLINI C. Ovulation induction in rabbit does: current knowledge and perspectives. *Animal Reproduction Science* 2011;129:106-117.
27. BARBERINE F, CORRER S, DE SANTIS F, MOTTA PM. The epithelium of the rabbit vagina: a microtopographical study by light, transmission and scanning electron microscopy. *Arch Histol Cytol* 1991;54:365-378.
28. BACHA WJ, BACHA LM. Atlas Color de Histología Veterinaria. 2nd ed. Buenos Aires, Argentina:Inter-Médica, 2001.
29. ALVARIÑO MR. Control de la Reproducción en el Conejo. Madrid, España:Mundi Prensa, 1993.
30. ARIAS AM, GARCÍA GR, REBOLLAR PG, LORENZO PL. Desarrollo folicular en la coneja. *ITEA* 2010;103(4):173-18.
31. CABA M, FRANCIS PKY, BEYER C, GONZÁLEZ A, SILVER R, SPIES HG. Coitus-induced activation of C-fos and gonadotropin-releasing hormone in hypothalamic neurons in female rabbits. *Molecular Brain Research* 2000;78:69-79.
32. VILLA GA, VERDUZCO GAR, RODRÍGUEZ HK, CABALLERO CS. Organización del sistema neuroendócrino a partir de ejes. En *Fisiología Veterinaria e Introducción a la Fisiología de los Procesos Productivos*.

CABALLERO CSC, VILLA-GODOY A, editores. D.F., México:Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 2010.

33. BAKKER J, BAUM MJ. Neuroendocrine regulation of GnRH release in induced ovulators. *Front Neuroendocrinol* 2000;21:220-262.
34. SPIES GH, PAU FKY, YANG SP. Coital and estrogen signals: a contrast in the preovulatory neuroendocrine networks of rabbit and *rhesus monkeys*. *Biology of Reproduction* 1997;56:310-319.
35. EASSON W. A review of rabbit and rodent production medicine. *Seminars In Avian and Exotic Pet Medicine* 2001;10(3):131-139.
36. SILVA M, NIÑO A, GUERRA M, LETELIER C, VALDERRAMA XP, ADAMS GP, RATTO MH. Is an ovulation-inducing factor (OIF) present in the seminal plasma of rabbits?. *Animal Reproduction Science* 2011;127:213-221.
37. DAHM-KÄHLER P, LÖFMAN C, FUJII R, AXELSSON M, JANSON OP, BRÄNNSTRÖM M. An intravital microscopy method permitting continuous long-term observations of ovulation *in vivo* in the rabbit. *Human Reproduction* 2006;21(3):624-631.
38. CASTELLINI C, DAL BOSCO A, ARIAS-ÁLVAREZ M, LORENZO LP, CARDINALI R, REBOLLAR GP. The main factors affecting the reproductive performance of rabbit does a review. *Animal Reproduction Science* 2010;122:174-182.
39. BOITI C. Underlying physiological mechanism controlling the reproductive axis of rabbit does. 8th World Rabbit Congress, 2004,186-206, Puebla, México.

40. SPENCER TE, BAZER FW. Biology of progesterone action during pregnancy recognition and maintenance of pregnancy. *Front Biosci* 2002;7:1879-1898.
41. CONTI CJ, GIMÉNEZ-CONTI IB, ZERBE GO, GERSCHENSON LE. Differential effects of estradiol-17 beta and progesterone on the proliferation of glandular and luminal cells of rabbit uterine epithelium. *Biol Reprod* 1981;24:643-648.
42. REBOLLAR PG, DAL BOSCO A, MILLAN P, CARDINALI R, BRECCHIA G, SYLLA L, LORENZO PL, CASTELLINI C. Ovulating induction methods in rabbit does: the pituitary and ovarian responses. *Theriogenology* 2012;77:292-298.
43. DELAVALD C, FERLAY A, FAULCONNIER Y, BOCQUIER F, KANN G, CHILLIARD Y. Plasma leptin concentration in adult cattle: effects of breed, adiposity, feeding level, and meal intake. *J Anim Sci* 2002;80:1317-1328.
44. CHILLIARD Y, DELAVALD C, BONNER M. Leptin expression in ruminants: Nutritional and physiological regulations in relation whit energy metabolism. *Domest Anim Endocrinol* 2005;29:3-22.
45. REBOLLAR PG, PEREDA N, VILLARROEL M, MILLÁN P, LORENZO PL. Oestrus synchronization of rabbit does at early post-partum by dam-litter separation or eCG injection: Effect on kit mortality and growth. *Livestock Science* 2006;103:12-22.
46. SUCKOW MA, SCHROEDER V. *The Laboratory Rabbit*. 2nd ed. Florida, USA:Taylor & Francis, 2010.

47. HUTT KJ, MC LAUGHLIN EA, HOLLAND MK. Primordial follicle activation and follicular development in the juvenile rabbit ovary. *Cell Tissue Res* 2006;326:809-822.
48. DHARMARAJAN AM, YOSHIMURA Y, SUEOKA K, ATLAS SJ, DUBIN NH, EWING LI, *et al.* Progesterone secretion by corpora lutea of the isolated perfused rabbit ovary during pseudopregnancy. *Bio Rep* 1988;38:1137-1143.
49. HOLT JA. Regulation of progesterone production in the rabbit corpus luteum. *Bio Reprod* 1989;40:201-208.
50. HOFFMAN KL, GONZÁLEZ-MARISCAL G. Progesterone receptor activation signals behavioral transitions across the reproductive cycle of the female rabbit. *Hormones and Behavior* 2006;50:154-168.
51. MELVIN EJ, LINSEY BR, QUINTAL-FRANCO J, ZANELLA E, FIKEKE, VAN TASSELL CP *et al.* Estradiol, luteinizing hormone, and follicle stimulating hormone during waves of ovarian follicular development in prepuberal cattle. *Biol Reprod* 1999;60:405-412.
52. BOBES RJ, PÉREZ MM, GÓMEZ Y, ROMANO MC. Metabolism of progesterone to estrogens and androgens by individual follicles of the goat ovary. *Small Rum Res* 2003; 47:233-242.
53. THEAU-CLÈMENT M. Advances in biostimulation methods applied to rabbit reproduction. 7th World Rabbit Congress, 2000, 61-79, Valencia, España.
54. MARTÍNEZ CMA. *Cunicultura*. 2nd ed. D.F., México:Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 2004.

55. MARTÍNEZ-GÓMEZ M, JUÁREZ M, DISTEL H, HUDSON R. Overlapping litters and reproductive performance in the domestic rabbit. *Physiology and Behavior* 2004;82:629-636.
56. NEGATU Z, MCNITT JI. Hormone profiles and nest-building behavior during the periparturient period in rabbit does. *Animal Reproduction Science* 2002;72:125-135.
57. GONZALEZ-MARISCAL G, DÍAZ-SÁNCHEZ, MELO V, BEYER AI, ROSENBLATT JS. Maternal Behavior in New Zealand white rabbits: quantification of somatic events, motor patterns and steroid plasma levels. *Physiol Behav* 1994;55:1081-1089.
58. GALINA C, VALENCIA J. *Reproducción de Animales Domésticos*. 3ª ed. D.F., México:Limusa, 2008.
59. ANZALDÚA ASR, MENDOZA RCA, CAMACHO AI, CERBÓN M, PÉREZ MM. Progesterone receptor immunoreactivity differs in the uterus of pseudopregnant and medroxyprogesterone acetate-treated rabbits. *Animal Reproduction Science* 2010;120:173-178.
60. GRAY CA, STEWART MD, JOHNSON GA, SPENCER TE. Postpartum uterine involution in sheep: histoarchitecture and changes in endometrial gene expression. *Reproduction* 2003;125:185-198.
61. PASCUAL JJ, CERVERA C, BLASAND E, FERNANDEZ-CARMONA J. The effect of high fat diets on performance and food intake of primiparous and multiparous rabbit does. *Animal Science* 1998;66:491-499.
62. JANDETE DH, MARTÍNEZ CMA, GÁLVEZ LCA. *Zootecnia Cunicula*. En: *Introducción a la Zootecnia*. TRUJILLO OME, editora. D.F.,

México:Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 2010.

63. CARDINALI R, DAL BOSCO A, BONANNO A, DI GRIGOLI A, REBOLLAR PG, LORENZO PL, CASTELLINI C. Connection between body condition score, chemical characteristic of body and reproductive traits of rabbit does. *Livest Sci* 2008;116:209-215.
64. BRECCHIA G, BONANNO A, GALEATI G, FEDERICI C, MARANESI M, GOBBETTI A, *et al.* Hormonal and metabolic adaptation to fasting: effects on the hypothalamic-pituitary-ovarian axis and reproductive performance of rabbit does. *Domest Animal Endocrinol* 2006;31:105-122.
65. FORTUN-LAMOTHEL. Effects of pre-mating energy intake on reproductive performance of rabbit does. *Anim Sci* 1998;66:263-269.
66. PLÁ M, BASELGA M, GARCÍA F, DELTERO J. Mating behavior and induction of ovulation in meat rabbit. 3rd World Rabbit Congress 1984;437-445. Roma, Italia.
67. OLA I, OYEGBADE M. Buck effect on rabbit oestrous: vulva colour, vaginal lumen cells and ovarian follicle populations. *World Rabbit Science* 2012;20(2):71-79.
68. GARCÍA GJ, ARCILLA LX, CANO FJF, ISAZA AV, TOVAR AAC, VALENCIA RA *et al.* Expresión de azúcares endometriales y del oviducto durante el ciclo reproductivo de la coneja. *Rev Chil Obstet Ginecol* 2007;72(3):176-181.

69. THEAU-CLÉMENT M, ROUSTAN A. A study on relationship between receptivity and lactation in the doe, and their influence on reproductive performances. *J Appl Rabbit Res* 1992;15:412-421.
70. GÓMEZ RAMOS B, BECERRIL PÉREZ CM, TORRES HERNÁNDEZ GF, PRO MARTÍNEZ A, RODRÍGUEZ DE LARA R. Relación del nivel de alimentación, cambio de jaula y ayuno con el comportamiento reproductivo de conejas nulíparas Nueva Zelanda blanco y Californiana. *Agrociencia* 2005;39(5):491-499.
71. RUSS JC. *The Image Processing Handbook*. 6th ed. Florida, USA: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2012.
72. GONZÁLEZ RC, WOODS RE. *Digital Image Processing*. 3rd ed. New Jersey, USA: Pearson-Prentice Hall, 2008.
73. Diario Oficial de la Federación 1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. NOM-062-ZOO. Norma Oficial Mexicana, México.
74. WEI S, GONG Z, WEI M. Studies of GnRH-A active immunization effects on LH and FSH secretion and histostructure of the ovary and uterus in rabbits. *Agricultural Sciences in China* 2011;10(10):1630-1637.
75. WEI S, BAI J, GONG Z, MA W, WEI M. GnRH agonist active immunization influences ovarian development and GnRH receptor mRNA expression levels of pituitary in Japanese white rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Livestock Science* 2011;139:222-229.
76. FORTUN-LAMOTHE L, GIDENNE T, LAPANOUS A, DE DAPPER J. An

original system to separately control litter and female feed intake without modification of the mother-young relations. *World Rabbit Science* 2000;8(4):177-180.

77. UBILLA E, REBOLLAR PG, PAZO D, ESQUIFINO A, ALVARIÑO JMR. Effects of doe-litter separation on endocrinological and productivity variables in lactating rabbits. *Livestock Production Science* 2000;67:67-74.
78. BAI W, OLIVEROS-SAUNDERS B, WANG Q, ACEVEDO-DUNCAN M, NICOSIA S. Estrogen stimulation of ovarian surface epithelial cell proliferation. *In Vitro Cell Dev Biol* 2000;36:657-666.
79. ARAGÓN JH, SUÁREZ SJ, PÉREZ MM. Morphometric characteristics of female reproductive organs of New Zealand rabbits with different body weight in peripuberal period of transition. *Vet Méx* 2010;41:211-218.
80. BRENNER RM, MASLAR LA. The primate oviduct and endometrium. *Physiol. Reprod* 1988;1:303-329.
81. MULHOLLAND J, JONES CJ. Characteristics of uterine aging. *Microsc Res Tech* 1993; 25:148–168.
82. KONG S, ZHANG S, CHEN Y, WANG W, WANG B, CHEN Q, DUAN E, WANG H. Determinants of uterine aging: lessons from rodent models. *Science China Life Sciences* 2012;55(8):687-693.