



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

---

**PLACENTACION Y PARTICIPACION DEL  
CUERPO LUTEO EN EL MANTENIMIENTO DE LA  
GESTACION DE *Barisia imbricata imbricata*  
-UNA PERSPECTIVA EVOLUTIVA-  
(REPTILIA: ANGUIDAE)**

BO 1324/97  
E. 2

**T E S I S**

QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS  
PARA OBTENER EL GRADO DE  
**MAESTRO EN CIENCIAS**  
**EN EL AREA DE**  
**BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION**  
PRESENTA EL BIOLOGO  
**MARTIN MARTINEZ TORRES**



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.

**Este trabajo realizó en el Laboratorio de Biología de la Reproducción de la  
Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala  
y en la  
Estación de Biología Tropical de los Tuxtlas  
de la  
Universidad Nacional Autónoma de México  
contando con la asesoría del Dr. Richard C. Vogt.**

**No importan la equivocaciones ni las las exageraciones;  
lo que vale es el valor de pensar en voz alta,  
decir las cosa tal como se sienten en el momento que se dicen,  
ser lo suficientemente temerario para proclamar  
lo que uno cree que es la verdad,  
sin importar las consecuencias  
y caiga quien cayere.**

**Sí fuera uno a esperar a tener la verdad absoluta en la mano,  
o sería un necio o se vovería uno mudo para siempre,  
el mundo se detendría en su marcha.**

**JOSÉ CLEMENTE OROSCO**

Imagine there's no heavens  
it's easy if you try  
no help below us  
above us only sky  
Imagine all the people  
living for today.

Imagine there's no countries  
it's not hard to do  
nothing to kill or die for  
and no religion too.

Imagine all the people  
living life in peace  
you may say I'm a dreamer  
but I'm not the only one  
I hope some day you join us  
and the world will be at one.

Imagine no possessions  
a wonder if you can  
no need to grieve or hunger  
the brotherhood of man.

Imagine all the people  
sharing all the word  
you may say I'm a dreamer  
but I'm not the only one  
I hope some day you join us  
and the world will be at one.

IMAGINE  
(John Lennon)

## **DEDICATORIA**

**Este trabajo esta dedicado a toda esa gente  
que tiene convicciones propias,  
que tiene el valor de decir lo que piensa bajo cualquier circunstancia, que ha dejado  
su vida –o parte de ella– en aras de la realización de sus nobles ideales.  
Esa gente para mi es admirable.**

**A todas esas personas que han estimulado mi inquietud y entusiasmo por la  
investigación**

**Para aquellos que están de acuerdo conmigo en que la motivación fundamental de  
la obtención de un título o grado  
no obedece al mezquino interés de alcanzar una mejor posición material.**

**A Gloria,  
por todo lo que hemos compartido.**

**A mi madre,  
que es un gran ejemplo de lucha.**

## **AGRADECIMIENTOS**

**A la naturaleza por permitirme crear mi propia aventura para conocerla, disfrutarla y maravillarme de su grandeza**

**A todas aquellas personas que compartieron conmigo las dificultades que se presentaron en esta aventura, mi gran aventura, y que colaboraron con hechos o con palabras de aliento en los momentos críticos; por que gracias a su apoyo fue posible superarlas**

**Agradezco muy sinceramente las facilidades así como la asesoría y el apoyo  
técnico otorgado por la  
Biol. Lourdes Rojas Morales y la Q. F. B. Sirenia García Pozos  
de la  
Unidad de Microscopía Electrónica del Centro de Estudios Avanzados del I. P. N.  
para la realización de la parte correspondiente a  
Microscopía Electrónica**

**También quiero agradecer a la Biol. Edna Tirado su apoyo para la cuantificación de  
progesterona**

## RECONOCIMIENTOS

A todas esas personas, hechos o circunstancias que hicieron más difícil esta aventura porque:

- a) representaron para mi una motivación extra para aprender,
- b) son el mejor punto de referencia para valorar y reafirmar las convicciones personales
- y
- c) porque gracias a ellos uno puede reconocer y valorar a los verdaderos amigos

## **ADVERTENCIAS**

**Este trabajo de tesis no es apto para:**

**agachados,  
curriculeros,  
chachareros  
piloneros,  
refriteros  
talacheros  
pusilanimos**

**ni para aquellos que carecen de pundonor.**

# INDICE

|  | página |
|--|--------|
| LISTA DE FIGURAS.....  | I      |
| LISTA DE TABLAS .....  | IV     |
| RESUMEN .....  | 1      |
| INTRODUCCION .....   | 3      |
| Generalidades .....  | 3      |
| Definición de términos .....   | 5      |
| Aparato reproductor .....  | 8      |
| El ovario .....  | 8      |
| Crecimiento folicular .....  | 8      |
| Atresia folicular .....  | 11     |
| Folículos Postovulatorios .....  | 13     |
| Esteroidogénesis ovárica .....   | 15     |
| Organos sexuales secundarios .....   | 17     |
| ANTECEDENTES .....   | 20     |
| Evolución de la vivíparidad en los reptiles .....                              | 20     |
| Endocrinología de la preñez de los reptiles vivíparos .....                    | 23     |
| Parto .....  | 25     |
| Placentación .....   | 29     |
| Funciones placentarias .....   | 37     |
| JUSTIFICACION Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....                               | 38     |
| OBJETIVOS .....  | 41     |
| MATERIAL Y MÉTODO .....  | 42     |
| Período de apareamiento .....  | 42     |
| Ovulación .....  | 43     |
| Período de gestación .....   | 43     |
| Placentación .....   | 43     |
| Cuerpos lúteos .....   | 44     |
| Lutectomía y extirpación de los folículos atrésicos .....                      | 44     |
| Efecto de la lutectomía sobre los niveles plasmáticos<br>de progesterona ..... | 47     |
| Análisis estadístico de los datos .....  | 48     |

|   |     |
|---|-----|
| RESULTADOS .....  | 49  |
| Período de apareamiento .....   | 49  |
| Ovulación .....   | 50  |
| Periodo de gestación .....  | 50  |
| Placentación .....  | 52  |
| Cuerpos lúteos .....  | 71  |
| Efecto de la lutectomía y extirpación de los folículos atrésicos<br>al inicio de la preñez sobre el mantenimiento de la gestación ..... | 79  |
| Efecto de la lutectomía en la preñez temprana sobre el<br>mantenimiento de la gestación .....   | 81  |
| Efecto de la lutectomía en la preñez temprana sobre el<br>tamaño de la camada .....   | 85  |
| Efecto de la lutectomía sobre los niveles plasmáticos<br>de progesterona .....  | 86  |
| DISCUSION .....   | 87  |
| Placentación .....  | 87  |
| Membrana de la cáscara .....  | 91  |
| Cuerpo lúteo, progesterona y viviparidad .....  | 93  |
| Parto .....   | 95  |
| Evolución de la viviparidad reptileana.....   | 97  |
| CONCLUSIONES .....  | 101 |
| APENDICE .....  | 102 |
| LITERATURA CITADA .....   | 109 |

## **Lista de figuras**

**página**

|  |           |
|--|-----------|
| Figura 1.- <i>Huevos Fossilizados</i> .....                              | <b>4</b>  |
| Figura 2.- <i>Ovario de Lacertilios</i> .....                            | <b>9</b>  |
| Figura 3.- <i>Pared del Folículo Vitelogénico de un Lacertilio</i> ..... | <b>10</b> |
| Figura 4.- <i>Folículo Atrésico Vitelogénico</i> .....                   | <b>12</b> |
| Figura 5.- <i>Vias de Síntesis de Esteroides Sexuales</i> .....          | <b>16</b> |
| Figura 6 A .- <i>Aparato Reproductor Femenino de Reptil</i> .....        | <b>18</b> |
| Figura 6 B .- <i>Corte Transversal de Oviducto de Reptil</i> .....       | <b>19</b> |
| Figura 7.- <i>Placenta de Salpa democrática</i> .....                    | <b>29</b> |
| Figura 8 A.- <i>Placenta Coriovitelina de los Reptiles</i> .....         | <b>31</b> |
| Figura 8 B.- <i>Onfaloplacenta de los Reptiles</i> .....                 | <b>32</b> |
| Figura 8 C.- <i>Onfaloalantoplacenta de los Reptiles</i> .....           | <b>32</b> |
| Figura 9 - <i>Placentas Corioalantoideas de los Reptiles</i> .....       | <b>36</b> |
| Figura 10.- <i>Espermatozoides de <u>Barisia i. imbricata</u></i> .....  | <b>49</b> |
| Figura 11.- <i>Crios in utero de <u>Barisia i. imbricata</u></i> .....   | <b>51</b> |

|   |         |
|---|---------|
| Figura 12 A.- <i>Fase I de la Placentación: Placenta Coriovitelina (Masa de Células Mesodérmicas)</i> ..... | 53      |
| Figura 12 B y C.- <i>Fase I de la Placentación: Placenta Coriovitelina</i> ..                               | 54      |
| Figura 12 D.- <i>Fase I de la Placentación: Grieta Vitelina</i> .....                                       | 55      |
| Figura 12 E.- <i>Fase I de la Placentación: Onfalopleura Bilaminar</i> ....                                 | 56      |
| Figura 13.- <i>Fase II de la Placentación: La Onfaloplacenta</i> .....                                      | 58      |
| Figura 14 A.- <i>Fase II de la Placentación: La Alantoplacenta</i> .....                                    | 59      |
| Figura 14 B.- <i>Fase II de la Placentación: Límite de la Alantoplacenta.</i> .....                         | 60      |
| Figura 15 A.- <i>Fase III de la Placentación: Zona Hipertrofiada del Corioalantoides</i> .....              | 62      |
| Figura 15 B, C y D.- <i>Fase III de la Placentación: Células Binucleadas</i> .....                          | 62 y 63 |
| Figura 15 E.- <i>Fase III de la Placentación: Corioalantoides Liso y Membrana de la Cáscara</i> .....       | 64      |
| Figura.15 F, G.- <i>Fase III de la Placentación: Membrana de la Cáscara</i> .....                           | 65      |
| Figura H, I.- <i>Fase III de la Placentación: Pared Uterina</i> .....                                       | 66      |
| Figura 16 A y B.- <i>Fase III de la Placentación: La Onfaloplacenta</i> .....                               | 67      |
| Figura 17.- <i>Leucocitos Eosinófilos en la Membrana de la Cáscara</i> ...                                  | 68      |

|   |     |
|---|-----|
| Figura 18.- <i>Residuos de los Anexos Embrionarios</i> . . . . .                                      | 69  |
| Figura 19 A y B.- <i>Corte Histológico de los Anexos Embrionarios</i> . . .                           | 70  |
| Figura 20.- <i>Fase II de Desarrollo del Cuerpo Lúteo</i> . . . . .                                   | 72  |
| Figura 21.- <i>Fase III de Desarrollo del Cuerpo Lúteo</i> . . . . .                                  | 73  |
| Figura 22.- <i>Fase I de Involución del Cuerpo Lúteo</i> . . . . .                                    | 75  |
| Figura 23 A y B.- <i>Fase II de Involución del Cuerpo Lúteo</i> . . . . .                             | 76  |
| Figura 24.- <i>Fase IIIa de Involución del Cuerpo Lúteo</i> . . . . .                                 | 77  |
| Figura 25.- <i>Fase IIIb de Involución del Cuerpo Lúteo</i> . . . . .                                 | 78  |
| Figura 26.- <i>Crios Prematuros de <u>Barisia i. imbricata</u></i> . . . . .                          | 81  |
| Figura 27.- <i>Esquema Hipotético de la Evolución de la<br/>Viviparidad en los Reptiles</i> . . . . . | 100 |

## **Lista de tablas**

página

|  |                |
|--|----------------|
| Tabla I.- <i>Efecto de la remoción del cuerpo lúteo o el ovario sobre la preñez y el parto de escamosos vivíparos . . . .</i>                                  | <b>26 y 27</b> |
| Tabla II.- <i>Efecto de la lutectomía y la extirpación de los folículos atresicos al inicio de la preñez, sobre el mantenimiento de la gestación . . . . .</i> | <b>79</b>      |
| Tabla III.- <i>Tabla de Anova Ponderada de un Factor: Cuerpos Lúteos (Inicio de la Preñez) . . . . .</i>   | <b>80</b>      |
| Tabla IV.- <i>Tabla de Anova Ponderada de un Factor: Embriones (Inicio de la Preñez) . . . . .</i>   | <b>80</b>      |
| Tabla V.- <i>Efecto de la lutectomía, en la preñez temprana, sobre el mantenimiento de la gestación y el parto . . . . .</i>                                   | <b>82</b>      |
| Tabla VI.- <i>Anormalidades en el parto . . . . .</i>  | <b>82</b>      |
| Tabla VII.- <i>Efecto de la lutectomía en la preñez temprana sobre la frecuencia y el tipo de crías expulsadas así como huevos infértiles . . . . .</i>        | <b>83</b>      |
| Tabla VIII.- <i>Tabla de Anova Ponderada de un Factor: Crías Normales Vivas. . . . .</i>   | <b>83</b>      |
| Tabla IX.- <i>Tabla de Anova Ponderada de un Factor: Crías Normales Muertas. . . . .</i>   | <b>84</b>      |

|   |           |
|---|-----------|
| Tabla X.- <i>Tabla de Anova Ponderada de un Factor:</i><br><i>Huevos Infértiles. . . . .</i>                  | <b>84</b> |
| Tabla XI.- <i>Número de Cuerpos Lúteos y Críos. . . . .</i>   | <b>85</b> |
| Tabla XII.- <i>Tabla de Anova Ponderada de un Factor:</i><br><i>Tamaño de la Camada . . . . .</i>             | <b>85</b> |
| Tabla XIII.- <i>Efecto de la Iutectomía sobre los niveles</i><br><i>plasmáticos de progesterona . . . . .</i> | <b>86</b> |

# RESUMEN

Martín Martínez Torres (Maestría en Biología de la Reproducción). Placentación y participación del cuerpo lúteo en el mantenimiento de la gestación de Barisia imbricata imbricata -una perspectiva evolutiva- (Reptilia: Anguillidae).

Este trabajo describe el desarrollo, la degeneración del cuerpo lúteo y su participación en el mantenimiento de la gestación y el parto en la lagartija vivípara Barisia i. imbricata. También se describen las características histológicas de las placentas coriovitelina, onfaloplacenta y alantoplacenta y, de esta última, algunas características ultraestructurales. Además se muestran evidencias que descartan su participación endocrina en el mantenimiento del primer tercio de la gestación. Finalmente, con los datos obtenidos en este trabajo y con los aportados por otros autores se da un panorama evolutivo de la viviparidad reptiliana.

Barisia i. imbricata es una lagartija vivípara de zona templada de las cuatro subespecies descritas por Guillette y Smith (1982); habita en elevadas altitudes (2100 - 4000 m.s.n.m.) en pastizales asociados a bosques de pino de la cadena montañosa transvolcánica de los estados del centro de la República Mexicana (Distrito Federal, México, Hidalgo, Puebla, Morelos, Michoacán, Jalisco, Oaxaca y Veracruz)(Guillette y Casas-Andreu,1987). La población utilizada para este trabajo fue capturada en los municipios de Tultitlán y Cuautitlán, Estado de México, en una vegetación tipo chaparral. El apareamiento ocurre en octubre y noviembre; en los últimos días de este mes y en los primeros días de diciembre sucede la ovulación. El desarrollo embrionario es largo, dura seis meses, se inicia a finales del otoño (fines de noviembre o principios de diciembre) y termina ya entrada la primavera (a finales de mayo o principios de junio). El cuerpo lúteo se forma inmediatamente después de la ovulación y su desarrollo máximo lo alcanza al final del primer tercio de la gestación, cuando los embriones presentan los estadios 24 a 25.

Después del estadio 15 las membranas extraembrionarias forman el primer tipo placentario, la placenta coriovitelina, la cual es transitoria y substituida (en el estadio 22) inicialmente por el celoma extraembrionario y posteriormente por el corioalantoides.

Los primeros cambios regresivos del cuerpo lúteo coinciden con el inicio del segundo tercio de la gestación y con la formación de la onfaloplacenta y la alantoplacenta. El desarrollo, y sobre todo el crecimiento, del embrión son bastante rápidos en este periodo.

El último tercio de la gestación se caracteriza por la hipertrofia transitoria del ectodermo de la onfaloplacenta seguido de una reducción hasta el momento del parto. En la alantoplacenta también hay hipertrofia transitoria muy localizada hacia la región mesometrial (que constituye el "placentoma primitivo") y regiones laterales lisas, (el paraplacentoma). Es posible observar células binucleadas en el borde externo del placentoma primitivo. La membrana de la cáscara se adelgaza y pierde su integridad en este lugar; en la región abembrionaria es gruesa y esta infiltrada por células, particularmente hay abundancia de eosinófilos. El parto ocurre a fines de mayo y principios de junio.

La lutectomía y la extirpación de los folículos atrésicos vitelogénicos practicada tres a seis días después de haber sido detectada la ovulación demostró que no son importantes para el mantenimiento de la gestación. También evidenció que hay una fuente secundaria extraovárica de progesterona ya que no se encontró ninguna diferencia estadísticamente significativa en las concentraciones de progesterona cuando se comparan con los niveles medidos una semana después de haber realizado su extirpación. Es muy probable que la glándula adrenal sea la fuente secundaria de progesterona ya que al momento de realizar la extirpación no existía ninguno de los tipos placentarios arriba señalados. La lutectomía promovió el parto prematuro y el parto disociado con expulsión de crías a término (vivas y muertas), por lo que se asume que el cuerpo lúteo participa en el trabajo de parto.

# INTRODUCCION

## *Generalidades*

La selección natural presumiblemente opera sobre todos los estadios del ciclo de vida de un animal, de tal manera que puede esperarse que tanto los embriones como los adultos presenten adaptaciones a los medios ambientes en los cuales ellos se encuentran. Por otro lado, lo que acontezca con una población depende mucho más de las adaptaciones que ocurran en las fases embrionarias que los que sucedan durante el estado adulto (Nieuwkoop y Sutasuraya, 1983; Packard y col. 1977).

Los reptiles son el grupo de vertebrados que llevaron a cabo grandes innovaciones (p.e. fertilización interna, huevo cleidoico) que le permitieron su radiación y amplia evolución en el medio terrestre. Es en ellos donde se inicia la diferencia tajante en el modo de desarrollo, el cual hace posible dividir a los vertebrados en amniotas y anamniotas (Elinson, 1989). No se conocen estadios intermedios entre estas dos formas de desarrollo, pero es obvio que las membranas fetales no se originaron de un momento a otro sino mediante la secuencia de modificaciones graduales (Szarski, 1968; Thien, 1960). A pesar de que existen en una gran variedad de invertebrados (onicóforos, insectos, escorpiones, erizos de mar, y algunos tunicados) y vertebrados (Kaye, 1972; Heap y col., 1979) es difícil encontrar publicaciones que tengan como meta estudiar el curso de las modificaciones de las membranas fetales. Es evidente que estas estructuras son análogas y se originaron de manera independiente a las de los vertebrados.

Tradicionalmente se ha considerado que la viviparidad es una característica exclusiva de los mamíferos a pesar de que se presenta en todas las clases de vertebrados excepto en las aves y los ciclostomos (Wourms, 1981). Existen evidencias paleontológicas (figura 1), taxonómicas y embriológicas que indican que en los reptiles y otros grupos de vertebrados la condición primitiva de reproducción es la oviparidad y que la viviparidad derivó de ella (Burgin, 1990; Callard, 1992; Ghiara, 1988; Matheus, 1955). En los reptiles, durante la transición de la oviparidad a la viviparidad han ocurrido una

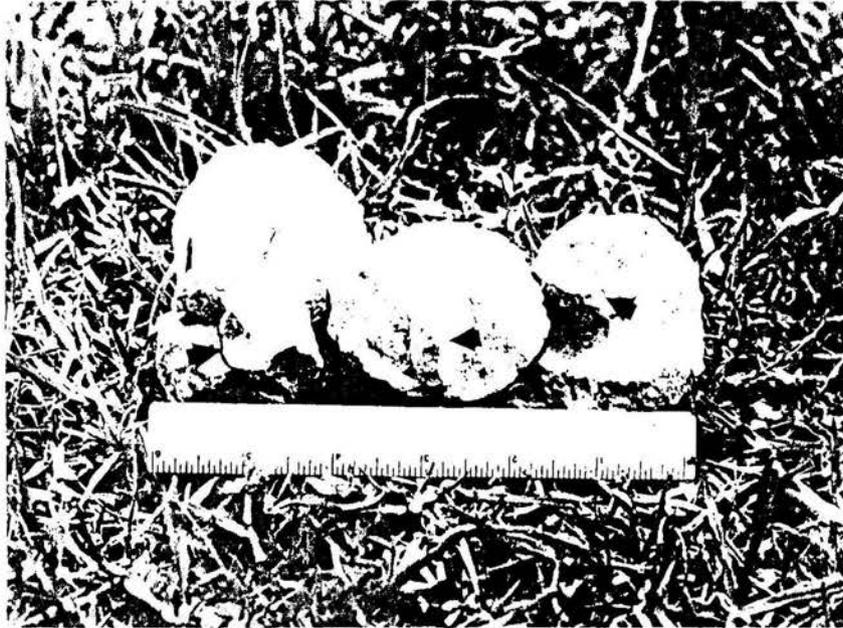


Figura 1.- *Huevos Fossilizados*: Su descubrimiento es un caso sumamente afortunado. Las puntas de flecha señalan la masa de vitelo.

serie de cambios profundos en el ovocito, en el embrión y en el organismo materno. Con esta nueva forma de paridad el huevo perdió la cáscara, redujo su contenido de vitelo, el embrión modificó sus membranas extraembrionarias para ayudar a construir una estructura más eficiente, la placenta, que le permitiera entre otras funciones la obtención de nutrientes a partir del organismo materno. Una precondition necesaria para que estos cambios ocurran es que la hembra retenga el huevo por periodos cada vez más largos durante el cual el embrión podría alcanzar estadios de desarrollo cada vez más avanzados (Callard y col, 1992; Porter y col. 1982). La selección natural favoreció a aquellas especies cuyas hembras retuvieron sus embriones por periodos progresivamente más largos que permitieron que el desarrollo embrionario se completara (Shine y Bull, 1979) y así, de esta manera, la viviparidad se originó de la oviparidad.

Aunque la oviparidad es el modo común de paridad entre los reptiles, casi el 20% de las aproximadamente 6 000 especies de escamosos (lagartijas, serpientes y anfisbaenidos) que existen en el mundo son vivíparas (Blackburn, 1982a); en contraste todas las especies de tortugas (250), de cocodrilos (21 especies) y las dos especies de tuátaras son ovíparas (Blackburn 1982a; 1985).

## **Definición de términos**

La utilización de vocablos adecuados en cualquier área del conocimiento es fundamental para el análisis y la explicación de los fenómenos que ocurren en la naturaleza; como en este trabajo se hablará de oviparidad y viviparidad es necesario definirlos con claridad así como otros términos.

Aristóteles en su libro "Historia del Animalium" establece que el estudio de la reproducción y el desarrollo son básicos para el entendimiento de la biología de los organismos y utiliza los términos de oviparidad y viviparidad como una característica importante de la clasificación de los animales (Blackburn, 1992; Moore 1988). El primer término lo aplicó a aquellos animales que ponen huevos y el segundo término se refiere a las crías que son expulsadas vivas.

El aplicar el lenguaje científico con ligereza a llevado a diferentes autores a confundir la forma de paridad con el aporte nutritivo extravitelino. Blackburn (1992) establece con claridad el criterio más importante para distinguir entre la oviparidad y la viviparidad: la presencia o ausencia de cubiertas ovulares al momento de la expulsión de los críos. Tomando en cuenta el criterio propuesto por Blackburn (1982 b, 1992, 1993 a), los razonamientos de Angelini y Ghiara (1984), Bertin (1952) y el de Panigel (1956) es que defino los siguientes vocablos y así se manejarán en curso de este trabajo.

**Ovulíparo.-** son aquellos animales donde las hembras expulsan sus gametos vírgenes, por lo que la fertilización y el desarrollo se llevan a cabo de manera natural fuera de la madre.

**Ovíparos.-** son animales cuyo producto reproductivo es un huevo embrionado depositado con la cáscara o alguna cubierta secundaria intacta.

**Vivíparos.-** son aquellos animales donde la hembra da origen a una larva o neonato libre de cubiertas ovulares o bien que éstas hayan perdido su integridad.

Si uno se basa en la secuencia de dos importantes eventos en las historias de vida (parto y eclosión), la clasificación será inherentemente cualitativa; así, cuando la expulsión del crío del organismo materno preceda a la eclosión el animal será clasificado como ovíparo; pero si la eclosión antecede al parto, el animal puede ser considerado como vivíparo.

Los reptiles ovíparos son especies típicamente lecitóricas, este patrón también es característico de los prototerios, de todas las aves y de muchos anamniotas.

**Lecitotrofia.**- en las especies ovulíparas y ovíparas el embrión, durante su desarrollo, obtiene los nutrientes del vitelo almacenado en el huevo.

Una gran cantidad de especies vivíparas también utilizan las reservas nutritivas que se almacenan en el huevo, pero en algún momento del desarrollo embrionario obtienen los nutrientes de fuentes extravitelinas y es cuando desarrollan la matrotrofia.

**Matrotrofia.**- en las formas matrotóricas el embrión obtiene los nutrientes a partir de fuentes extravitelinas.

En diversos grupos de vertebrados e invertebrados se da un tipo particular de matrotrofia: la placentotrofia, donde los nutrientes se obtienen del progenitor a través de la placenta.

A medida que avanzan nuestros conocimientos acerca de los procesos reproductores de los animales la acepción de la palabra **placenta** ha cambiado. De acuerdo a Wimsatt (1962) la idea original de este vocablo denotaba una unión anatómica y funcional de las membranas fetales al útero para la nutrición del producto. Tomando en cuenta este sentido estricto se pensaba que era peculiar de los mamíferos (Needham 1959). Actualmente se acepta que las funciones placentarias incluyen todas aquellas actividades que dependen directa o indirectamente de la fusión o de la interacción de los tejidos fetales y uterinos durante la vida prenatal (Wimsatt 1962). Mossman definió en 1933 a la placenta como "cualquier aposición interna o fusión de los órganos fetales a los tejidos maternos (o paternos) para intercambio fisiológico" y de esta manera será utilizado, a pesar de que esta definición no establece que tipo de elementos se intercambian, de ahí que se considere que cualquier reptil vivíparo es inherentemente placentario (Blackburn 1992), sin tomar en cuenta que diversas especies ovíparas expulsan sus productos en estadios del desarrollo embrionario bastante avanzados (Podarcis bocagei, estadio 22-26 Lacerta viridis, estadio 25-29, L. vivipara, 30-34; Braña y col., 1991) y dado que, por ejemplo, el oxígeno es un nutriente que no se puede almacenar es muy factible que estas especies lo obtengan de la madre y no por eso deba llamarse placenta a las membranas extraembrionarias que realizan esta función; por lo que es necesario trabajar en este sentido para establecer criterios y/o vocablos más adecuados a las funciones que realizan y de acuerdo al tipo de paridad que presenten.

**Estrategia reproductiva.**- es el factor principal por el cual usualmente se lleva a cabo el modo de reproducción bajo condiciones ambientales determinadas y en un momento dado.

**Aborto.**- a) cuando ocurra la expulsión de embriones o fetos en un lapso no mayor a 48 horas después del tratamiento quirúrgico, o b) cuando en el desarrollo normal el huevo contenga un embrión o un feto muerto que sea expulsado antes de completar el segundo tercio de la gestación.

**Parto prematuro.**- a) cuando el parto tenga lugar 21 días antes del primer dato límite de la serie a que corresponda, o b) cuando el feto expulsado no haya alcanzado el desarrollo y/o la madurez de un recién nacido normal.

**Parto normal.**- cuando los recién nacidos hayan alcanzado su desarrollo total y sean expulsados vivos y dentro de un período no mayor de 48 horas dentro de la fecha límite del parto de las hembras intactas mantenidas en las mismas condiciones de cautiverio a la serie que corresponda.

**Parto disociado.**- cuando la expulsión de la totalidad de los productos ocupe un periodo mayor de 48 horas o cuando a la revisión quirúrgica o autopsia se constate una retención ovular en el útero.

**Parto retardado.**- a) cuando el parto tenga lugar 21 o más días después de los datos límite de los partos normales de la serie considerada, o b) cuando produzca la expulsión de recién nacidos muertos habiendo alcanzado el término del desarrollo embrionario.

## ***Aparato reproductor.***

Al igual que en los demás vertebrados, los reptiles presentan órganos sexuales primarios (las gónadas) y secundarios (órganos accesorios, como conductos y glándulas). Los ovarios son estructuras huecas de forma oval o alargada, están suspendidos a la pared posterior del cuerpo por el mesovario, la cavidad esta limitada por un epitelio escamoso simple (van Tienhoven 1968).

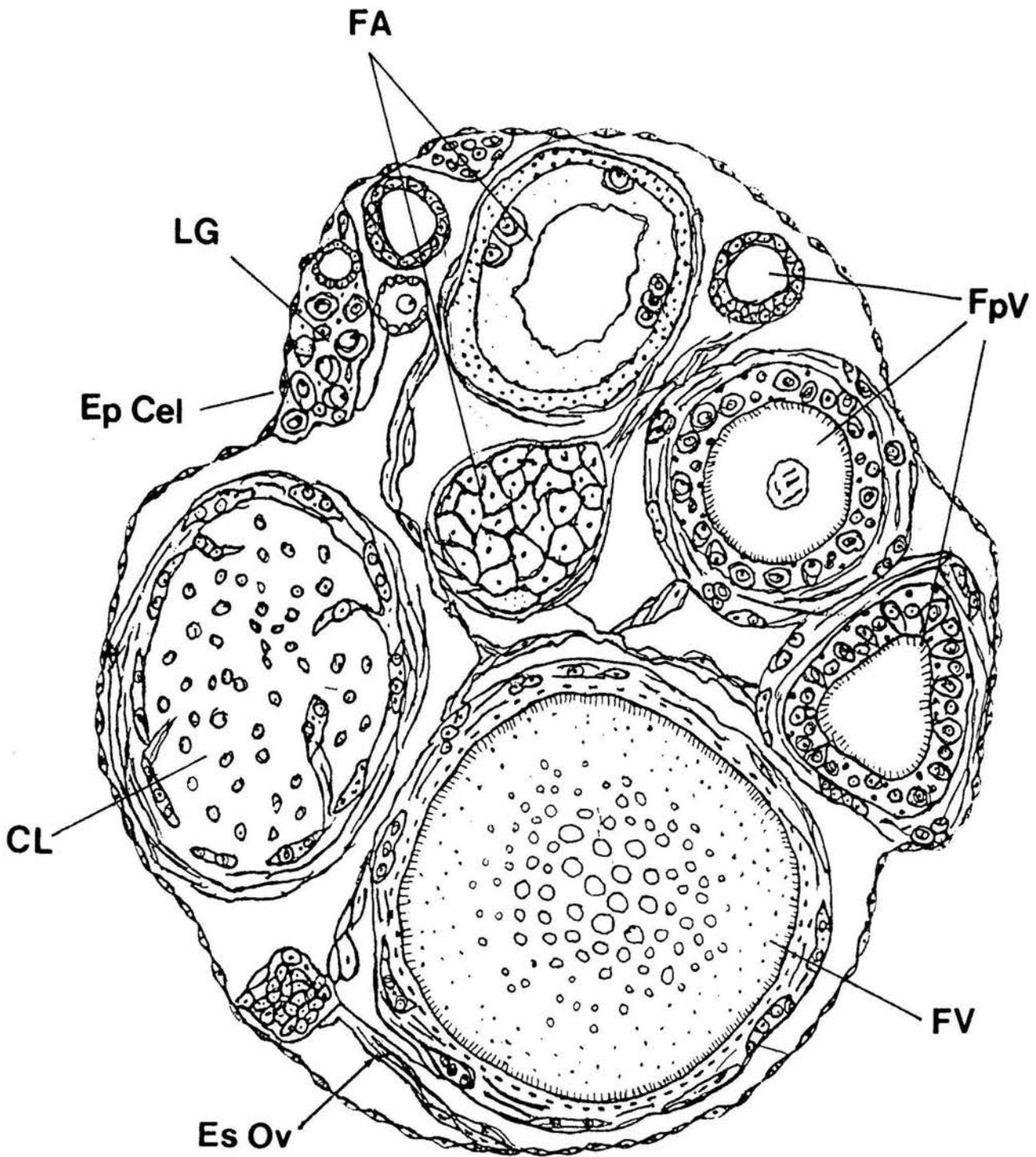
## ***El ovario.***

El aspecto del ovario cambia durante el ciclo reproductor. De manera general podemos señalar que durante la vitelogénesis el parénquima ovárico presenta folículos previtelogénicos poco aparentes, folículos vitelogénicos y folículos atrésicos. Durante la temporada de gestación son muy evidentes los cuerpos lúteos, también pueden encontrarse folículos atrésicos y folículos previtelogénicos poco aparentes. A diferencia de las aves y de los mamíferos, el ovario de los reptiles produce ovocitos a partir de ovogonias durante toda la vida, por lo que también en la parte dorsal del ovario se encuentran uno o varios lechos germinales donde se encuentran las ovogonias, las cuales proliferan y producen folículos primordiales previo a cada ciclo reproductivo (Byskov 1978; Guraya y Varma 1976). El estroma ovárico esta compuesto por fibras y diferentes tipos de células del parénquima, siendo los fibroblastos los más abundantes (figura 2).

El ovario cumple dos funciones fundamentales para la reproducción: la producción de gametos y la producción de hormonas.

## ***Crecimiento Folicular.***

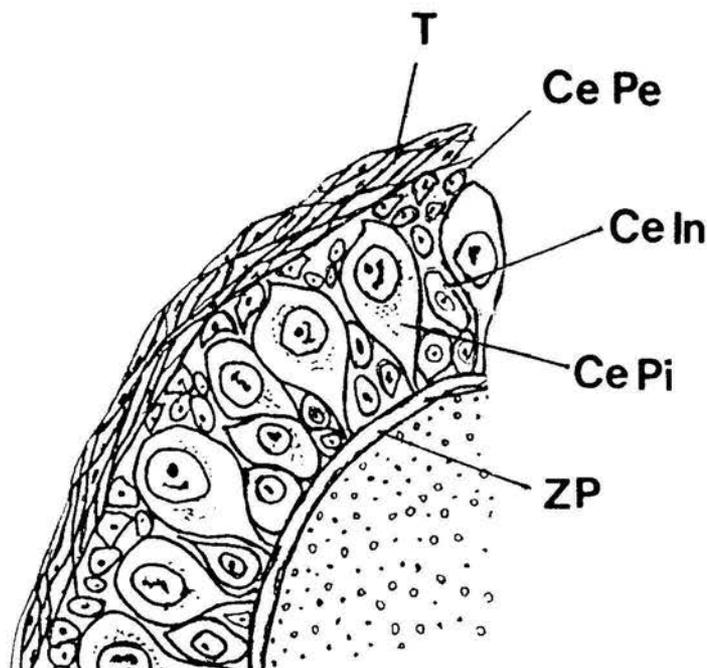
Dentro del lecho germinal los ovocitos crecen y maduran, posteriormente lo abandonan y de manera simultánea se rodean de la capa vitelina (o zona pelúcida) y de una capa de células planas, el epitelio folicular (o capa granulosa) (Guraya 1978; Guraya y Varma 1976) que se originan a partir de células indiferenciadas de la pared del lecho germinal. El ovocito en estos momentos mide, aproximadamente, 40 m $\mu$  de diámetro. Posteriormente el ovocito crece y la pared folicular se convierte en un epitelio estratificado constituido por tres tipos de células foliculares: células pequeñas, células intermedias y células piriformes (Guraya 1978).



**Figura 2.- Ovario de Lacertilios:** Su aspecto cambia a lo largo del ciclo reproductor; el esquema muestra las estructuras más representativas que pueden ser encontradas en un corte histológico. **LG:** Lecho germinal; **FpV:** Folículos Previtelogénicos; **FV:** Folículo Vitelogénico; **FA:** Folículos Atrésicos; **CL:** Cuerpo lúteo activo; **Es Ov:** Estroma Ovárico; **Ep Cel:** Epitelio Celómico. (Tomada de Villagrán, 1989).

Las células piriformes están en comunicación con el ovocito a través de proyecciones citoplásmicas y a su vez el ovocito presenta microvellosidades (figura 3). Durante el crecimiento ulterior del folículo el epitelio folicular se adelgaza; en los folículos vitelogénicos la teca se diferencia morfológicamente en teca externa y teca interna y el epitelio folicular esta compuesto por una sola capa de células planas las cuales tienen un tamaño y forma similar; conforme se va acumulando vitelo en el ovocito las células foliculares se van aplanando cada vez más, la zona pelúcida se vuelve más gruesa que en estadios previos y la teca incrementa su grosor y vascularización (Saidapur, 1982).

Los folículos vitelogénicos preovulatorios presentan la zona pelúcida todavía más engrosada, las células del epitelio folicular son sumamente aplanadas, hay una amplia vascularización en los límites de la teca interna y externa. La teca externa ha incrementado su grosor y es rica en fibras de colágena, la teca interna presenta células hipertrofiadas de citoplasma claro y núcleo vesicular (Guraya 1976, 1978)



**Figura 3.- Pared del Folículo Previtelogénico de un Lacertilio:** la cual esta compuesta por una capa acelular llamada zona pelúcida (Z P), epitelio folicular compuesto de células pequeñas (Ce Pe), células intermedias (Ce In) y células piriformes (Ce Pi) y la teca (T).

## ***Atresia Folicular.***

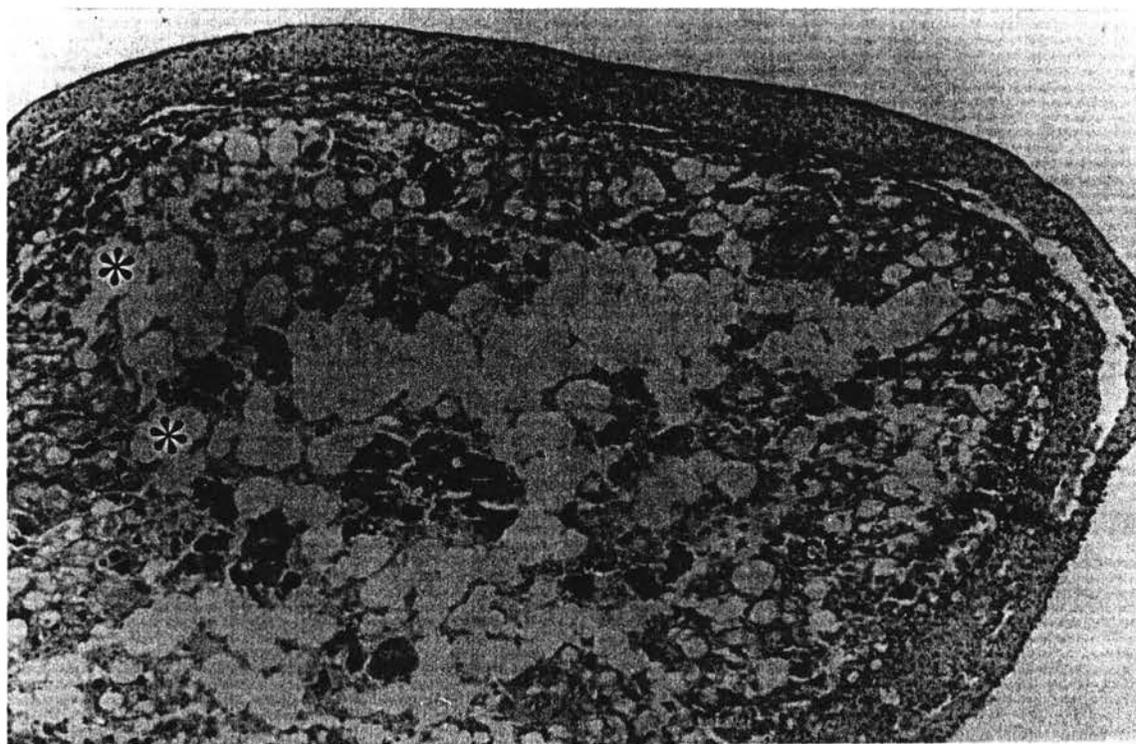
La atresia folicular ha sido definida como el conjunto de procesos mediante los cuales el folículo ovárico pierde su integridad y el ovocito es reabsorbido (Ingram, 1962). Puede afectar a los folículos en cualquier estadio de desarrollo y en cualquier momento del ciclo reproductor; aunque se ha señalado que es más frecuente en las hembras gestantes (Byskov; 1978; Villagrán 1989; Varma y Guraya 1978).

En el ovario de los vertebrados el ovocito queda detenido en la profase meiótica mientras crece y madura (Byskov, 1978), las células de la pared folicular juegan un papel muy importante en el soporte, nutrición y protección del ovocito; cambios en los componentes de la pared del folículo o en el medio ambiente que le rodea pueden dar como resultado la alteración en el crecimiento y/o maduración del folículo, hechos que pueden conducirlos a la degeneración (Byskov, 1978). Los folículos atrésicos (FA) fueron descritos a fines del siglo pasado por Mingazzini (1893) y lo refirió como “falso cuerpo lúteo”. Estas estructuras se encuentran presentes en el ovario de prácticamente todas las hembras de los vertebrados (Zuckerman, 1977). Aunque la naturaleza del fenómeno que desencadena el proceso atrésico no se conoce con certeza, es ampliamente aceptado que la alteración en los niveles hormonales (gonadotropinas y/o la tasa de andrógenos/estrógenos) promueven la degeneración folicular (Bragdon, 1952; Browning, 1973). La naturaleza del proceso atrésico depende de diversos factores y varía en las diferentes especies de acuerdo a las condiciones nutricionales y fisiológicas así como al tipo de folículo que es afectado por la atresia (Byskov, 1978). La atresia folicular es un fenómeno común en los reptiles, esta puede ocurrir en cualquier fase del desarrollo folicular (Betz, 1963; Byskov, 1978). En Hemidactylus flaviviridis la atresia folicular afecta usualmente a folículos que tienen la capa granulosa polimórfica y la atresia en folículos maduros raramente se observa (Guraya y Varma 1970).

Se ha demostrado que los FA presentan actividad de  $\Delta^5$ -3 $\beta$  hidroxisteroide deshidrogenasa ( $\Delta^5$ -3 $\beta$  HSD) aunque en muchos de ellos es débil, sin embargo, en Chamalleo calcaratus y Calotes versicolor los FA grandes presentan fuerte actividad de esta enzima (Byskov, 1978).

Diversos autores han propuesto que la atresia folicular es un mecanismo que reduce el tamaño de la puesta (Jones, 1982; Guillette y col., 1981). Guillette y col. (1981) sugieren que este fenómeno puede ser considerado como una protoadaptación a la viviparidad.

Debido a que se ha demostrado que los FA presentan actividad de la  $\Delta_5-3\beta$  HSD Browning (1973) sugirió que pueden representar en los vertebrados inferiores una fuente importante de hormonas esteroides, particularmente progesterona, cuya función podría ayudar a mantener el estado de gravidez (Villagrán, 1989; Guillette y col. 1981).



**Figura 4.- Folículo Atrésico Vitelogénico.** Se caracterizan por que el ovocito pierde su integridad y es invadido por las células foliculares (c f) para la degradación de vitelo como el que se muestra en la fotografía. También es posible observar abundantes espacios en el interior del ovocito (\*).

## ***Folículos Postovulatorios (Cuerpos Lúteos).***

Diversos autores han dirigido su atención al estudio histológico del cuerpo lúteo (CL), fundamentalmente por su participación en la preñez (Saidapur, 1982; Villagrán, 1989; Yaron, 1972a, 1985; Guillette y Jones, 1985).

Una vez que el ovocito es liberado, los folículos tienen la apariencia de un saco colapsado compuesto por tejido epiteliode, tejido conjuntivo y desechos celulares. Inmediatamente después los folículos postovulatorios sufren una serie de cambios morfológicos e histológicos durante el desarrollo e involución del CL, los cuales se describen a continuación con base en los criterios establecidos por Saidapur (1982), Guraya y Varma (1976) y Varma y Guraya (1970).

### **Desarrollo del Cuerpo Lúteo**

#### *Estadio I*

El folículo que recién ha liberado al ovocito consiste de una gran cavidad; poco tiempo después de la ovulación el folículo postovulatorio se contrae dando como resultado el plegamiento y engrosamiento de la pared folicular. Las capas de la granulosa poseen múltiples estratos de células a causa de la contracción; no hay mitosis. Las células son ovales e incrementan mucho su tamaño debido a la hipertrofia; las células, ahora llamadas lúteas, tienen núcleo central ovoide o redondo y contiene de uno a tres nucleolos y citoplasma acidófilo. Las células de las tecas también sufren cambios morfológicos y forman capas totalmente desarrolladas, el grosor de las cuales varía en diferentes lugares. La teca externa puede ser más delgada o igual que la interna en algunos lugares.

#### *Estadio II.*

La masa de células de la granulosa es multiestratificada y aun más hipertrofiada.

#### *Estadio III.*

La apertura o hendidura en este estadio se estrecha considerablemente y su margen interna se curva y se proyecta hacia adentro del tejido lúteo. El folículo postovulatorio se reduce en tamaño, hay una hipertrofia adicional de las células lúteas granulosas, las cuales se esparcen hacia la luz y la obliteran; a lo largo del septo de origen tecal se encuentran capilares que invaden la masa de células lúteas hipertrofiadas.

#### *Estadio IV.*

La apertura esta completamente cerrada y la luz es mucho mas reducida En algunas especies se encuentran grandes vasos sanguíneos en el tejido luteal. El borde interior de la teca se hace muy evidente debido a la presencia de núcleos fuertemente teñidos muy distintos a los de estadios previos. Las células lúteas granulosa hipertrofiadas poseen un núcleo grande y abundante citoplasma eosinófilo. El CL es ahora una estructura sólida y compacta que posee tres diferentes zonas: *La zona externa:* está formada de la teca externa de consistencia laxa, contiene fibras de colágena, fibroblastos y células hipertrofiadas con citoplasma claro. *La zona media:* la teca interna es dos veces más gruesa que la teca externa. La teca interna es más celular, contiene abundantes fibroblastos y algunas fibras de colágena, su núcleo se tiñe profundamente. *La zona interna;* esta compuesta por una masa de células lúteas, las cuales tienen un arreglo compacto. El CL desarrollado es bastante vascularizado en algunas especies.

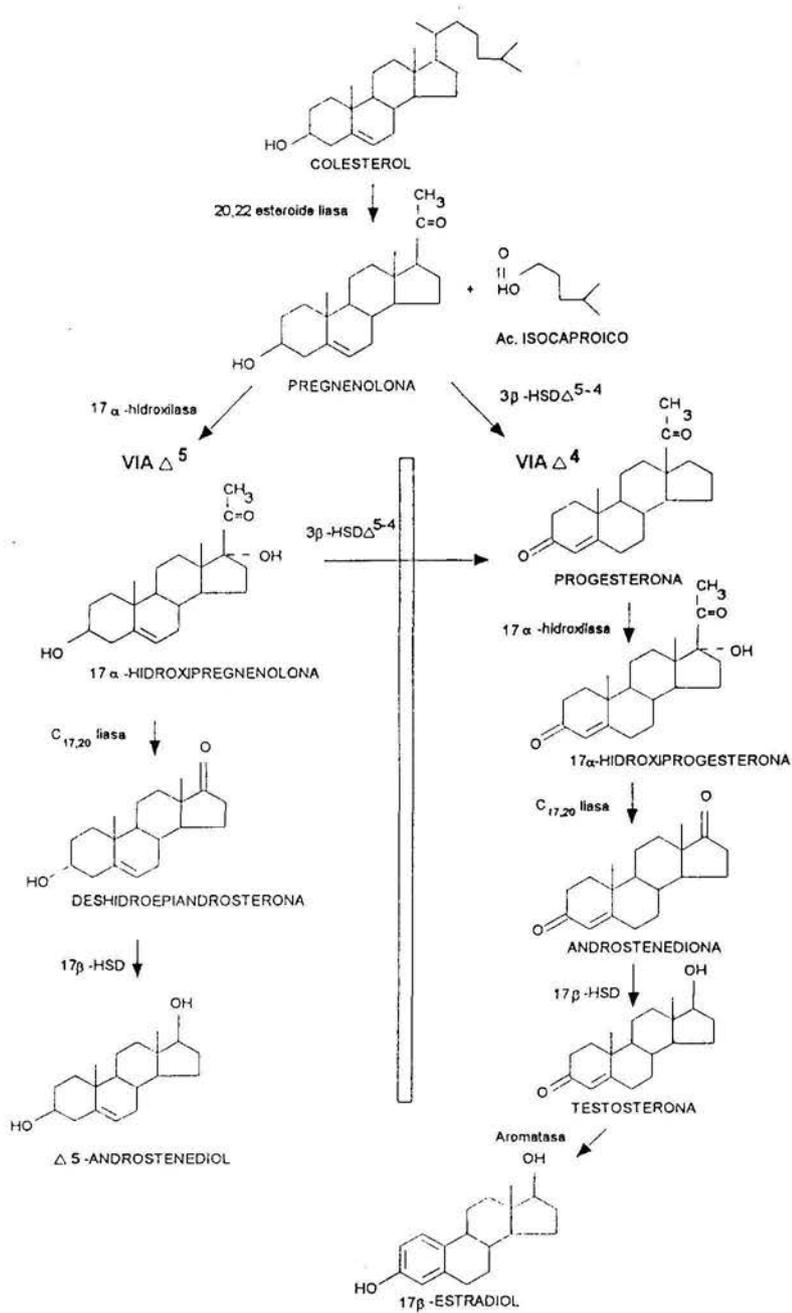
#### **Involución del Cuerpo Lúteo.**

El mas importante signo de degeneración es la aparición de vacuolas en el citoplasma, el núcleo se convierte en picnótico. Los macrófagos se vuelven abundantes en las zonas de degeneración del tejido luteal. Las células de la teca interna también se vascularizan. La teca externa se adelgaza y se vuelve fibrosa. Durante las fases avanzadas de degeneración el tamaño de los CLs se reduce y en la región central predomina la masa de células vacuoladas con núcleos contraídos . Las tecas se vuelven fibrosas y no se distingue una de otra. La contracción del CL esta acompañada por la acumulación de pigmentos. Finalmente, algunas células permanecen sepultadas en una delgada teca. Tales estructuras son comparables al corpus albicans de los mamíferos.

Diversos trabajos han demostrado una relación positiva entre la concentración de progesterona y la actividad histológica del cuerpo lúteo (Veith, 1974; Callard y Lance, 1977; Higfill y Mead, 1975a, 1975b; Callard y col., 1972a; Chan y col. 1973) de tal manera que se acepta que cuando el CL presenta células grandes, de citoplasma acidófilo con núcleo grande y redondeado es activo (Villagrán, 1989) en la secreción de hormonas, particularmente progesterona, y cuando empieza a presentar signos de degeneración su tasa de producción de esta hormona decrece, disminuyendo gradualmente de acuerdo al avance del fenómeno degenerativo.

## ***Esteroidogénesis Ovárica.***

Al igual que otras glándulas endocrinas secretoras de esteroides, el ovario reptiliano forma sus hormonas a partir del colesterol que incorpora en la dieta o bien a partir del acetato en el retículo endoplásmico; la conversión de colesterol a progesterona implica tres cambios estructurales en la molécula: la pérdida de un fragmento de seis átomos de carbono de la cadena lateral en el carbono (C ) 17, esto ocurre en las mitocondrias por acción de la enzima de escisión de la cadena lateral, el citocromo P-450 (P-450 scc), lo cual da lugar a la pregnenolona; la oxidación del grupo alcohol en el C-3 y la migración de la doble ligadura del anillo B al A por acción de la enzima 3 $\beta$ -Hidroxiesteroide deshidrogenasa  $\Delta^{5-4}$  isomerasa que lleva a la formación de progesterona en el retículo endoplásmico liso. Una vez formada la progesterona, la conversión a testosterona requiere de la actividad de 3 enzimas más: la 17 $\alpha$ -hidroxilasa, la C<sub>17-20</sub> liasa y la 17  $\beta$ - HSD. Esta secuencia es referida como la vía de la Progesterona (o  $\Delta^4$ ), se muestra al lado derecho de la figura 5. Los estrógenos se forman por aromatización de los andrógenos en un proceso complejo con tres hidroxilaciones, cada una de las cuales requiere de oxígeno y de fosfato de nicotiamida adenilnucleotido reducido (NADPH). El complejo enzimático aromatasa incluye una oxidasa P-450 de función mixta. Si el sustrato para este complejo es testosterona, se forma estradiol; en tanto que la estrona se debe a la aromatización de la androstenediona (por lo general esto ocurre en los tejidos extraováricos) (Murray y col., 1989). Las células de la granulosa son la fuente principal de estrógenos durante la vitelogénesis, mientras que el cuerpo lúteo asume las funciones esteroidogénicas durante la preñez (Callar y Kleis, 1987).



**Figura 5.- Vías de Síntesis de las Hormonas Esteroides Sexuales**  
 Esteroides producidos en el folículo ovárico a partir del colesterol. Se muestran la vía  $\Delta^5$  y  $\Delta^4$  así como las enzimas involucradas.

## ***Órganos sexuales secundarios.***

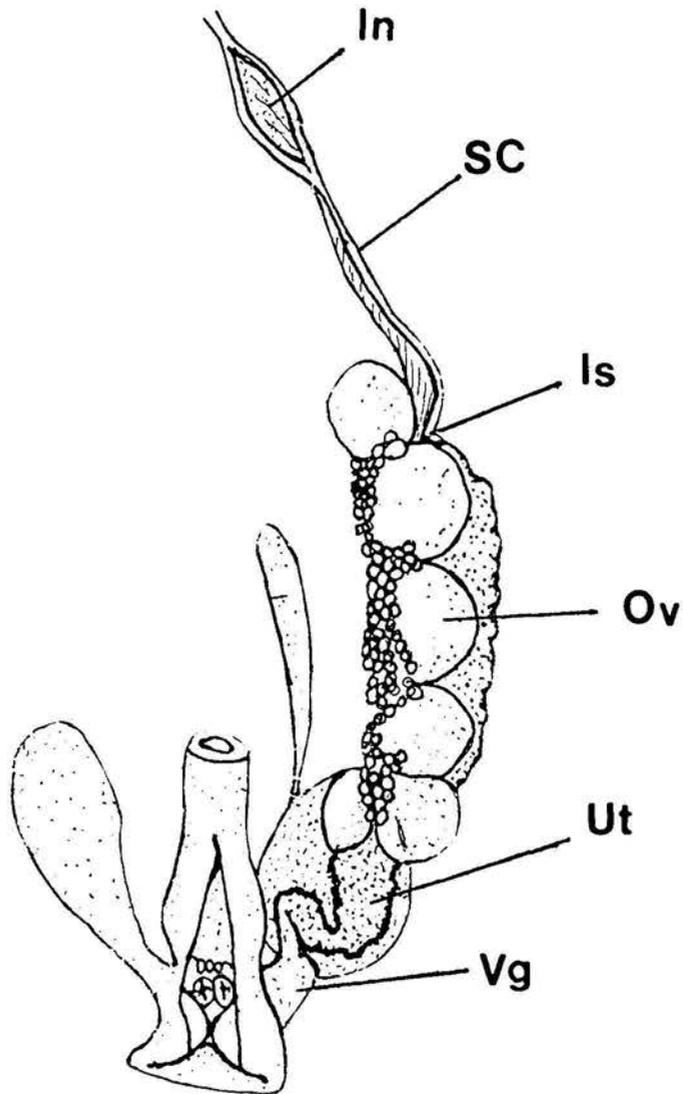
En los vertebrados los conductos de Müller se diferencian en lo que genéricamente se conoce como oviductos (Fox, 1977). Numerosos trabajos han dedicado sus esfuerzos a la descripción de este órgano en diversas especies de reptiles (Cuéllar, 1966, 1970; Fox, 1977; Villagrán, 1989; Guillette y Jones, 1985; Hatton y Gist, 1975; Uribe y col., 1988). Se han encontrado ciertas diferencias en el oviducto de reptiles ovíparos con respecto a los vivíparos, principalmente en la región encargada de producir las membranas de la cáscara (Guillette, 1993) y en la región del albumen (Hatton y Gist 1975) la cual esta prácticamente ausente en las especies vivíparas.

Los oviductos en las especies de escamosos (serpientes, lagartijas y anfisbaenidos) estudiados es muy similar e incluso estructuralmente tiene fuertes semejanzas con el de los mamíferos (Guillette y Jones, 1985). De acuerdo a los estudios realizados en lagartijas por Cuéllar (1966 y 1970) se sabe que los oviductos son órganos pareados y cada uno esta constituido por cuatro regiones (fig. 6 A):

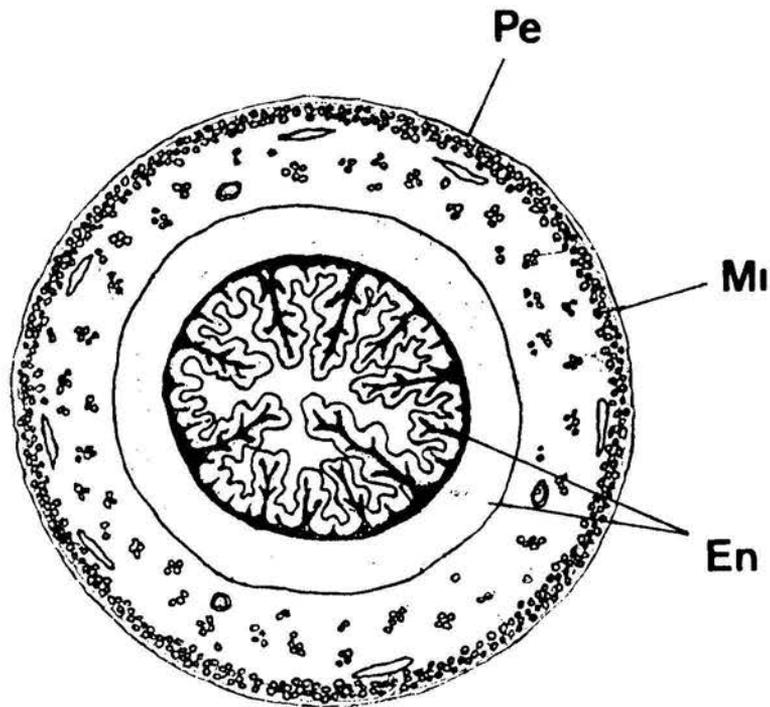
- a) un infundíbulo o embudo,
- b) un tubo o segmento contorneado
- c) un segmento uterino
- d) una vagina, la cual se comunica con la cloaca.

En las hembras preñadas se hace evidente la presencia de un esfínter entre el tubo y el segmento uterino, el istmo (Jones y Guillette, 1982).

A lo largo de las 4 regiones señaladas, el oviducto esta compuesto por tres capas, las cuales varían en sus características de acuerdo a cada región y a la fase del ciclo reproductor (Uribe y col. 1988); de afuera hacia adentro son: 1) La serosa o perimétrio; esta compuesta por mesotelio y tejido conjuntivo laxo, que permite que este órgano se mueva libremente, 2) La capa media o miometrio, la cual esta compuesta de dos capas de músculo liso (una circular y otra longitudinal) es responsable del transporte de los ovocitos y embriones (Jones y Guillette, 1982) y 3) La mucosa o endometrio, la cual limita la luz de los oviductos está compuesta por una capa de tejido epitelial y conjuntivo. La capa epitelial de revestimiento así como las glándulas varían de forma y tamaño (tubulares simples y/o alveolares simples), de acuerdo a la región que se trate; a lo largo de las cuatro regiones. (figura 6 B).



**Figura 6 A.- El Aparato Reproductor Femenino de Reptil.** Este presenta órganos pareados como en la mayoría de los vertebrados, en el esquema se muestran sólo las estructuras del lado izquierdo del aparato reproductor femenino de un lacertilio vivíparo. In: Infundíbulo; SC: Tubo o segmento contorneado, Is: Istmo, Ut: Utero, Vg: Vagina, Ov: Ovario (Tomado de Méndez, 1994)



**Figura 6 B.- Corte Transversal de Oviducto de Reptil.** El esquema muestra las diferentes capas que forman los conductos del aparato reproductor femenino: el endometrio (En) es la capa mas interna, el epitelio que limita la luz puede variar de forma lo largo del aparato reproductor y aplanarse en el útero durante la preñez. La capa intermedia, el miometrio (Mi) y el perimetrio (Pe) que rodea las capas internas del aparato reproductor.

# ANTECEDENTES

## *Evolución de la viviparidad en los reptiles*

Hay evidencias paleontológicas (Norman, 1988 a, 1988 b), taxonómicas y embriológicas de que el modo ancestral de reproducción en los reptiles es la oviparidad y que la viviparidad derivó de ella. Una de las características más notables de la oviparidad es la de producir huevos con mucho vitelo; de la misma manera los embriones de las especies vivíparas de lagartijas y serpientes tienen un huevo telolécito, lo que refleja que se derivan de ancestros ovíparos (Packard y col., 1977). No es sorprendente que exista muy poca información acerca de las estrategias reproductoras de los reptiles extintos ya que ocasionalmente han sido descubiertos dinosaurios adultos con nidos y huevos fertilizados (Horner, 1982; Norman, 1988a, 1988b). Una notable excepción es una especie de Ictosaurio del Mesozoico donde han sido encontrados especímenes adultos conteniendo esqueletos de embriones en diferentes estadios de desarrollo y en algunos las crías se han fosilizado en el proceso de nacimiento o aborto (Romer, 1966). De los reptiles vivientes las dos especies de tuátaras, las 21 especies de cocodrilos y todas las tortugas (250 especies) son ovíparas (Blackburn, 1982a; Shine, 1985), pero aproximadamente una quinta parte de las casi 6000 especies de escamosos (lagartijas, serpientes y anfisbaenidos) son vivíparas (Shine, 1984). La viviparidad no está restringida a algunas familias o géneros, al contrario, se encuentra ampliamente distribuida. Existen especies vivíparas en 11 de las 17 familias de saurios y en 10 de las 15 familias de serpientes (Blackburn, 1982a, 1985). Todas las especies de anfisbaenidos son ovíparas excepto Trogonophis (Blackburn, 1985; Buns y Saint Girons, 1962).

A pesar de que la viviparidad en los reptiles fue reconocida, desde hace más de 2300 años, es a partir de la década de los 70's en que el interés por el estudio de este fenómeno ha crecido (Hoffman, 1970; Yaron, 1972a, 1972b; Guillette y col., 1980; Shine y Bull, 1979; Tinkle y Gibbons, 1977) incrementándose de manera notable desde hace poco más de 10 años (Blackburn, 1982a, 1982b, 1985, 1993a, 1993b; Heulin, 1990; Shine, 1984; Stewart, 1990, 1993; Villagrán, 1989; Dumbrack y Ramsay, 1989; Shine y Guillette, 1988; Ghiara y col., 1987).

La viviparidad ha evolucionado de manera independiente al menos 98 veces en los escamosos y en algunos casos más de una vez dentro de un sólo género. La alta frecuencia de orígenes evolutivos que se presentan en los escamosos es el resultado de una amplia diversidad de protoadaptaciones fisiológicas a la viviparidad presente en los ancestros inmediatos de las especies vivíparas (Shine, 1984, 1995, Shine y Bull, 1979). Es obvio que las presiones ecológicas selectivas favorecieron a aquellas especies protoadaptadas a la viviparidad. Se han propuesto diversas hipótesis para explicar las presiones selectivas que condujeron a la viviparidad a los reptiles (Shine, 1985). De acuerdo a los datos presentados por Weekes (1933), Sergev (1940) y más recientemente por Shine (1985) y Camarillo (1990); todos ellos apoyan la hipótesis del "clima frío".

Esta hipótesis establece que en las regiones con clima frío, la temperatura del suelo es tan baja que únicamente permitiría que el desarrollo embrionario completo se llevara a cabo en el período de un solo verano, de no ocurrir de esta manera los embriones no eclosionarían y morirían por las bajas temperaturas invernales. En cambio si los huevos son retenidos en el útero, ellos pueden desarrollarse a temperaturas más elevadas dentro del cuerpo de la madre (debido a la conducta termoregulatoria de las hembras independientemente de las bajas temperaturas ambientales) y de esta manera ser capaces de completar su desarrollo en el tiempo que se requiera. Es obvio que no todos los casos de viviparidad son explicables mediante esta hipótesis.

El estudio de las protoadaptaciones y adaptaciones morfofisiológicas a la viviparidad en los reptiles ha llamado poderosamente la atención de diversos investigadores y grupos de investigación (Callard y Leathem, 1965; Harrison y Weekes, 1925; Highfill y Mead, 1975; Stewart y Blackburn, 1988; Callard y col., 1972, 1992; Ghiara y col., 1987; Guillette y col., 1981; Jones y col., 1983, 1987). En este sentido, se ha encontrado que existen cambios anatómicos, histológicos y fisiológicos durante la transición de la oviparidad a la viviparidad (Bauchot, 1965; Weekes, 1929; Yaron, 1972). Estos cambios han ocurrido tanto en las hembras gestantes como en los embriones. Por ejemplo las hembras vivíparas han reducido la cantidad de glándulas productoras de la cáscara y han aumentado el número de estructuras vasculares para el intercambio gaseoso con el embrión (Guillette, 1982b, 1993). A cambio los embriones han aumentando su afinidad por el oxígeno (Ingerman 1992) y han modificado sus membranas extraembrionarias para desarrollar un tipo particular de matrotrofia embrionaria, la placentotrofia (Blackburn, 1993; Stewarth, 1990, 1992). Los modelos aceptados en la evolución de la viviparidad proponen que esta serie de modificaciones se

desarrollaron en aquellas hembras que tuvieron la capacidad de retener el huevo en el útero por períodos cada vez más largos hasta que la embriogénesis concluyera y el crío fuera capaz de sobrevivir de manera independiente. Por lo cual la retención del huevo fue un aspecto determinante en la transición hacia la viviparidad.

Uno de los prerequisites más importantes para que la viviparidad pudiera alcanzarse fue que durante la retención del huevo la cáscara se redujera suficientemente como para permitir el intercambio gaseoso entre la madre y el feto. Los embriones de los reptiles ovíparos a través de las membranas cáscara y la cáscara calcárea pueden intercambiar gases y captar agua del medio (Acuña-Mesen, 1986; Thompson, 1981, 1987; Packard y col., 1977), pero durante el desarrollo embrionario de las especies vivíparas este intercambio debe ser con el útero. Interesantemente muchas especies vivíparas presentan membrana de la cáscara o un remanente de ésta durante gran parte del desarrollo intrauterino (reptiles, Packard, 1977; canguros, Tyndale-Byscoe y Rintre, 1987). En diversos vertebrados la membrana de la cáscara posee queratina y colágena (Needham, 1953); en *T. elegans* la membrana de la cáscara es acidófila y PAS positiva,

La idea de que el CL y la progesterona estuvieron involucradas en la retención del huevo y, por consiguiente, en la evolución de la viviparidad fue propuesta inicialmente por Hisaw (1959). Shine y Guillette (1988) han propuesto un modelo fisiológico para explicar la retención uterina prolongada del huevo e investigar sus implicaciones en la evolución de la viviparidad reptileana. Ellos sugieren que el medio ambiente (p. e la temperatura o cualquier otra condición medioambiental que genere estrés) estimula un incremento en la actividad de la glándula adrenal en la hembra gestante que resulta en la síntesis de progesterona así como de corticosterona, las cuales pueden retrasar la luteólisis (por inhibición de la síntesis de prostaglandinas). Adicionalmente los niveles elevados de progesterona pueden inhibir las contracciones asociadas con la expulsión de la cría ya sea bloqueándolas directamente y/o por inhibición de la liberación de arginina-vasotocina (Agv) de la neurohipófisis.

## ***Endocrinología de la preñez en reptiles vivíparos.***

En la mayoría de las especies de reptiles las hembras presentan un patrón muy claro de actividad ovárica y de producción de huevos, alternados con período de quiescencia gonádica. Generalmente en los escamosos monoestrales de zonas templadas, la fase de crecimiento ovárico (gametogénesis) es explosiva, permaneciendo pequeño el ovario entre las fases de crecimiento. Típicamente ovulan en el verano aunque también existen especies que ovulan en el otoño e invierno (Callard y Kleis, 1987).

Las hormonas esteroides secretadas durante la gametogénesis por el folículo ovárico (estrógenos y progesterona) promueven cambios bioquímicos, morfológicos e histológicos en el oviducto que lo preparan para la preñez (Fox, 1977; Panigel, 1956; Yaron, 1972a; 1972b; Widser y Yaron 1974), aunque las interacciones normales específicas en la regulación y la función oviductal no están del todo conocidas (Yaron, 1972 b; Jones y Guillette, 1982).

Después de la ovulación en el folículo postovulatorio las células de la granulosa se metamorfosean y dan origen al cuerpo lúteo (CL) (Xavier, 1987). La luteinización esta acompañada de la presencia de abundantes lipoproteínas en el citosol, conteniendo entre ellas fosfolípidos libres, lípidos neutros, colesterol y/o ésteres y en algunos casos pigmentos (Guraya y Varma, 1976). La actividad de la  $\Delta^5\beta$ -HSD, enzima involucrada en la síntesis de progesterona (Miller, 1988), ha sido detectada en el CL de todas las especies de reptiles estudiadas como Lacerta sicula, L. vivipara, Natrix sipedon (Guraya y Varma 1976); Calotes versicolor, Chamaleon calcaratus, H. flaviviridis (Guraya, 1976; Saidapur, 1982); Mabuya carinata (Sekharappa y Devaraj-Sarkar, 1978) y M. capensis.

Cultivos *in vitro* del CL de reptiles ovíparos (Klicka y Mahmoud, 1977) y vivíparos (Xavier, 1982; Callard & Leathem, 1965) han demostrado que es capaz de convertir pregnenolona a progesterona. En el plasma de lagartijas vivíparas preñadas como Sceloporus cyanogenys y Chamaleo pumilis, se ha detectado la presencia de progesterona mediante radioinmunoanálisis (Veith, 1974; Callard y Doolittle, 1973). Además, se ha encontrado que existe una correlación positiva entre la concentración de progesterona en el plasma y la actividad histológica del CL en diversas especies de reptiles vivíparos (Xavier, 1987; Callard & Lance, 1977). Existen otras evidencias experimentales que demuestran que el CL es la principal fuente de progesterona plasmática durante la gestación. Highfill y Mead (1975a) usando cromatografía de gases

detectaron altas concentraciones de progesterona en el CL de Thamnophis elegans coincidiendo esto con las elevadas concentraciones plasmáticas medidas por radioinmunoanálisis. En Lacerta vivipara se ha encontrado que el tejido ovárico no luteal produce cantidades insignificantes de progesterona comparadas con las cantidades elevadas que secreta el CL de este esteroide durante la preñez (Xavier, 1982). Por otro lado se ha encontrado que después de la luteólisis inducida experimentalmente por prostaglandinas o de la lutectomía los niveles de progesterona plasmática descienden drásticamente en Anolis carolinensis (Guillette y Fox, 1985), en Thamnophis elegans la ovariectomía o lutectomía tienen iguales consecuencias (Highfill & Mead, 1975b).

Es evidente, de acuerdo a los datos anteriormente presentados que el CL es la fuente principal de progesterona en la preñez, aunque existen evidencias indirectas que otros órganos (por ejemplo: las glándulas adrenales, los folículos atrésicos vitelogénicos o la placenta ) pudieran producirla, al menos durante alguna etapa de la gestación (Bourne, 1972; Bourne y Seamark, 1972; Guillette y Fox, 1985; Guillette y col., 1981).

Por las semejanzas morfofisiológicas que se han encontrado entre el CL de los reptiles con respecto al de los mamíferos y de acuerdo a la observación de que se mantiene durante toda la preñez en los reptiles vivíparos, se promovió desde antaño la idea de que el CL juega un papel endocrino muy importante en la manutención de la gestación de los escamosos vivíparos (Mathews, 1955).

La viviparidad requiere que el período de retención del huevo *in utero* se prolongue hasta que el desarrollo embrionario se complete; en los ovíparos hay evidencias muy claras de la participación del CL en el control de la puesta del huevo, pero en los vivíparos su participación en la retención del huevo, hasta que el desarrollo embrionario se complete, no es muy clara ya que la respuesta a la desluteinización es variable y de acuerdo a los resultados obtenidos por diversos autores Xavier (1987) ha establecido que:

- a) La desluteinización en la preñez temprana causa la expulsión prematura de las crías.
- b) La desluteinización en la preñez media o tardía causa la retención del crío mas allá del tiempo normal de nacimiento, usualmente estas crías nacen muertas.

Sin embargo, otros autores han demostrado que la gestación y el parto pueden realizarse normalmente independientemente del tiempo en que se practique la desluteinización (Mabuya carinata, Sekharappa & Devaraj-Sarkar 1978; Chalcides ocellatus, Badir, 1968).

## **Parto**

Diversos estudios han demostrado que el CL influencia fuertemente el tiempo de gravidez en reptiles ovíparos. Se ha encontrado que inicia su regresión poco antes de la oviposición en muchas tortugas y algunos escamosos (p.e. Pseudemys scripta, Moll y Loeger, J. M., 1971; C. serpentina Cyrus, R. V. y col., 1978; S. aneus, Guillette, 1982) o bien, en otras especies, la involución se inicia inmediatamente después de la oviposición (Calotes versicolor, Varma, 1970; Uromastix hardwii, Arslan y col., 1976; Naja naja, Bonna-Gallo y col. 1980), además, la desluteinización quirúrgica (S. undulatus, Roth y col., 1973; C. picta, Klicka y Mahmoud, 1977; C. uniparens, Cuéllar, 1979; A. carolinensis, Guillette y Fox, 1981) así como la ovariectomía (C. serpentina, Klicka y Mahmoud, 1977) producen oviposición prematura.

El tiempo de regresión del CL difiere entre las lagartijas vivíparas estudiadas. En Anguis fragilis (Cunhinhham y Smart, 1934), Enhydryna schistosa (Samuel, 1944), S. gramicus y S. mucronatus (Villagrán, 1989) la regresión luteal ocurre al final del primer trimestre de la gestación, mientras que en S. jarrovi (Golberg, 1970; Guillette y col., 1981) y en L. vivipara ocurre al final del segundo trimestre (Panigel, 1956). En X. vigilis (Miller, 1948) y en S. cyanogenys la regresión se completa poco después del parto (Callar y col., 1972a).

En serpientes y lagartijas vivíparas se ha demostrado la participación del CL en el parto (ver tabla 1).

En S. cyanogenys (Callar, 1972a; Lien y Callar, 1968) y en C. pumilis (Veith, 1974) la ovariectomía durante la preñez temprana causaron reabsorción embrionaria, nacimiento de fetos muertos y provocó retraso en el parto. En L. vivipara la lutectomía o la ovariectomía bilateral causaron retraso en el parto y el nacimiento de productos muertos (Panigel, 1956).

Por otro lado, ha sido demostrado que extractos hipofisarios de Avt (hormona nativa de la neurohipófisis de los reptiles) induce la oviposición en diversas especies de lagartijas ovíparas (S. occidentalis y Uta stansburiana,

La Pointe, 1964, 1977; S. aeneus, Lepydodactylus lugubris y Hemydactilus frenatus, Guillette y Jones, 1982; S. undulatus, Guillette, 1990a y A. carolinensis, Jones y col., 1983c, Summers y col., 1985). Se ha encontrado, además, que la progesterona puede inhibir las concentraciones oviductales en C. picta (Callard y Hirst, 1976) y en C. serpentina (Mahmoud y col., 1984) y que la sensibilidad del oviducto a la Avt cambia durante la gravidez; se piensa que tales cambios pueden deberse a la influencia de hormonas esteroides (Callard y Hirsch, 1976; Guillette y Jones, 1980; Mahmoud y col., 1984) o a la estimulación de receptores adrenérgicos (Jones y col., 1983c; Zurich y col., 1971) y al grado de tensión oviductal (Jones y col., 1987, Jones y col., 1992). Particularmente Jones y Guillette (1982) piensan que los esteroides luteales pueden inhibir la secreción de Avt.

**Tabla 1 Efecto de la remoción del cuerpo lúteo o el ovario sobre la preñez y el parto de escamosos vivíparos**

| Especie                     | Estructura removida | Estadio de la preñez                     | resultado   |
|-----------------------------|---------------------|--|---|
| <b>SERPIENTES</b>           |                     |  |   |
| <u>Thamnophis y Nerodia</u> | ovarios<br>ovarios  | todos los estadios<br>todos los estadios | dos hembras abortaron<br>gestación normal hasta el 25 día postoperatorio          |
| <u>Nerodia</u>              | ovarios<br>ovarios  | al inicio<br>a la mitad                  | reabsorción de todos los embriones<br>reabsorción o aborto de todos los embriones |
|                             | ovarios             | al final                                 | Parto normal  |
| <u>Thamnophis sirtalis</u>  | ovarios             | al final                                 | Parto normal  |
| <u>Storeria dekayi</u>      | ovarios             | a la mitad                               | reabsorción o aborto de todos los embriones                                       |
| <u>Bothrops</u>             | cuerpo luteo        | se desconoce                             | todos los embriones muertos, las hembras murieron 10 días después de la cirugía   |
| <u>Nerodia sipedon</u>      | ovarios             | a la mitad                               | desarrollo y parto normal   |
| <u>Thamnophis elegans</u>   | cuerpo lúteo        | al inicio                                | desarrollo normal y parto retardado   |

| <b>LAGARTIJAS</b>                    |                                   |  |  |
|--------------------------------------|-----------------------------------|--|--|
| <b><u>Lacerta vivipara</u></b>       | ovarios y cuerpo lúteo unilateral | todos los estadios                       | desarrollo normal y parto  |
|                                      | Ovarios                           | todos los estadios                       | parto retardado en muchas hembras  |
|                                      | cuerpo lúteo                      | todos los estadios                       | parto retardado en dos de tres hembras   |
| <b><u>Chalcides ocellatus</u></b>    | laparotomía<br>cuerpo lúteo       | todos los estadios<br>todos los estadios | Desarrollo normal y parto<br>parto normal  |
| <b><u>Sceloporus cyanogenys</u></b>  | Ovarios                           | se desconoce                             | desarrollo normal y parto retardado  |
| <b><u>Trachydosaurus rugosus</u></b> | laparotomía                       | al inicio y a la mitad                   | la mayoría de embriones abortados  |
|                                      | ovarios                           | al inicio y a la mitad                   | la mayoría de embriones abortados  |
|                                      | cuerpo lúteo                      | al inicio y a la mitad                   | la mayoría de embriones abortados  |
| <b><u>Bradypodium pumilis</u></b>    | cuerpo lúteo                      | a la mitad y al final                    | el primer tratamiento causo la reabsorción de embriones, el segundo embriones normales |
|                                      | ovarios                           | al inicio y a la mitad                   | a mayoría de los embriones abortados o reabsorvidos                                    |
| <b><u>Mabuya carinata</u></b>        | cuerpo lúteo                      | al inicio                                | desarrollo y parto normal  |
| <b><u>Sceloporus jarrovi</u></b>     | cuerpo lúteo                      | al inicio                                | embriones abortados o reabsorvidos   |
| <b><u>Mabuya capensis</u></b>        | cuerpo lúteo                      | al inicio y a la mitad                   | desarrollo normal después de 4 semanas de la cirugía                                   |

\*tomado de Guillette 1987.

En lagartijas vivíparas la administración de hormonas neurohipofisarias (L. vivipara, Panigel, 1956; S. jarrovi, Guillette y col. 1979b) inducen el parto. Existen evidencias que la concentración de progesterona plasmática influencia el tiempo de trabajo de parto. En S. jarrovi (Guillette y col. 1991) la administración de progesterona exógena alarga el tiempo de gestación e interfiere con el proceso de nacimiento y en L. vivipara (Panigel, 1956) y en C. pumilis (Veith, 1974) impide los daños provocados por la lutectomía.

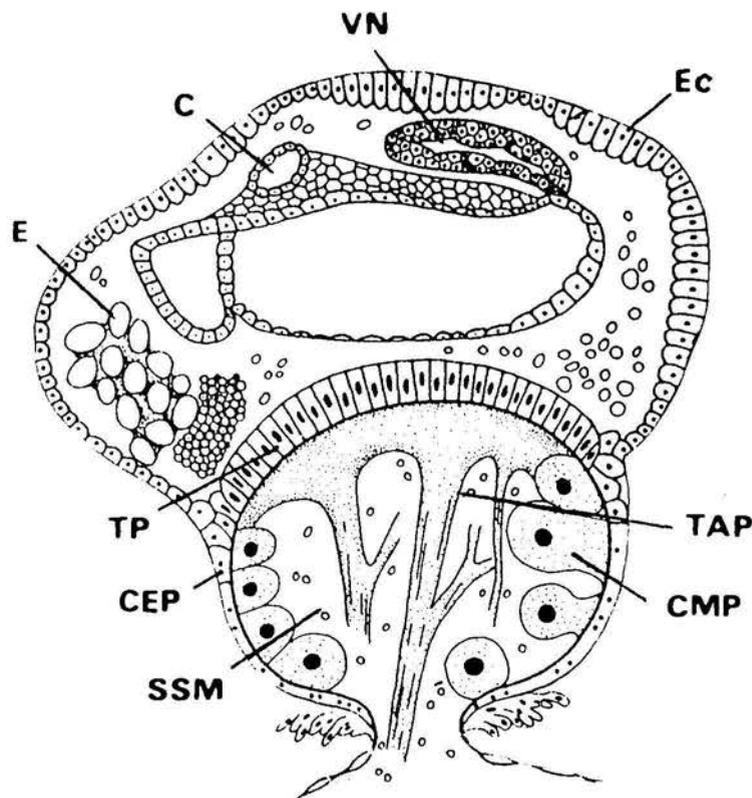
Diversos autores han señalado que durante la preñez de escamosos vivíparos los niveles plasmáticos de progesterona disminuyen a partir de la segunda mitad de la gestación (T. elegans, Highfill, 1975; T. rugosa, Bourne y col., 1986; Nerodia sp, Chan y col., 1973; Jones y col., 1992) o en el último tercio (L. vivipara, Xavier, 1985; S. jarrovi, Guillette y col., 1981); Jones y Guillette (1982), sugieren que estos cambios pueden influenciar el trabajo de parto y postulan tres hipótesis:

- a) Disparando el inicio de la secreción de Avt.
- b) Afectando la sensibilidad de la musculatura uterina a la Avt,  
o bien,
- c) Incrementando la cantidad de receptores en las células musculares lisas durante la preñez tardía.

## Placentación

Otro de los escenarios importantes en la evolución de la viviparidad, no sólo de los reptiles sino en general de las especies vivíparas (Wake, 1992), es la placentación.

Comúnmente se piensa que la placentación es una característica distintiva de los mamíferos pero esta adaptación a la viviparidad esta presente en invertebrados como en Dermápteros, Sálpidos, Onicóforos y Tunicados (figura 7) (Kaye y col 1972) y en todas las clases de vertebrados excepto ciclóstomos y aves.



**Figura 7.- Placenta de *Salpa democratica*.** La viviparidad en los invertebrados se presenta en diferentes grupos; en esta figura se muestra el esquema de un corte histológico donde se observa el arreglo placentario en el tunicado *Salpa democratica*. Ec: Ectodermo, E: Eleoblasto, V N: Vesícula Neural, F: Faringe, C: Cloaca, C E P: Cubierta Ectodérmica de la Placenta, T P: Techo de la placenta, T A P: Tejido Axial de la Placenta, S S M: Seno Sanguíneo de la Placenta, C M P: Células Marginales de la Placenta. (Tomada de Kaye y col., 1972).

El concepto clásico de placenta enunciado por Mosmann (1937) establece que “cualquier aposición o fusión de órganos fetales a los tejidos maternos (o paternos) para intercambio fisiológico” puede denominarse placenta. En esta definición quedan claramente implícitos los atributos funcionales de este órgano transitorio de vital importancia durante el desarrollo embrionario de todas las especies vivíparas.

En los reptiles, los estudios pioneros acerca de la placentación se iniciaron en la segunda mitad del siglo pasado (Giacomeni, 1891; Studiati, 1851). A fines del siglo pasado Giacomeni (1891) trabajó con Chalcides chalcides, especie que posee una de las placentas más complejas hasta ahora encontradas en los reptiles, años más tarde publica la histología oviductal y placentaria (Giacomeni, 1906). A la fecha la placenta ha sido descrita en no más de 45 especies de escamosos de las aproximadamente 1200 que presentan viviparidad. Yaron (1985) presenta una tabla donde muestra el número de especies y las características estudiadas hasta 1981. En la última década se han logrado avances importantes en este campo, incrementándose el número de especies estudiadas y estableciéndose un criterio homogéneo para referirse a los tipos de placenta hasta ahora encontradas en los reptiles, tomando como base los tejidos que participan (Stewart y Blackburn, 1988). De acuerdo a lo anteriormente señalado Stewart y Blackburn (1988) establecen la existencia de cuatro morfotipos de placentas estructuralmente distintas para los vivíparos escamosos.

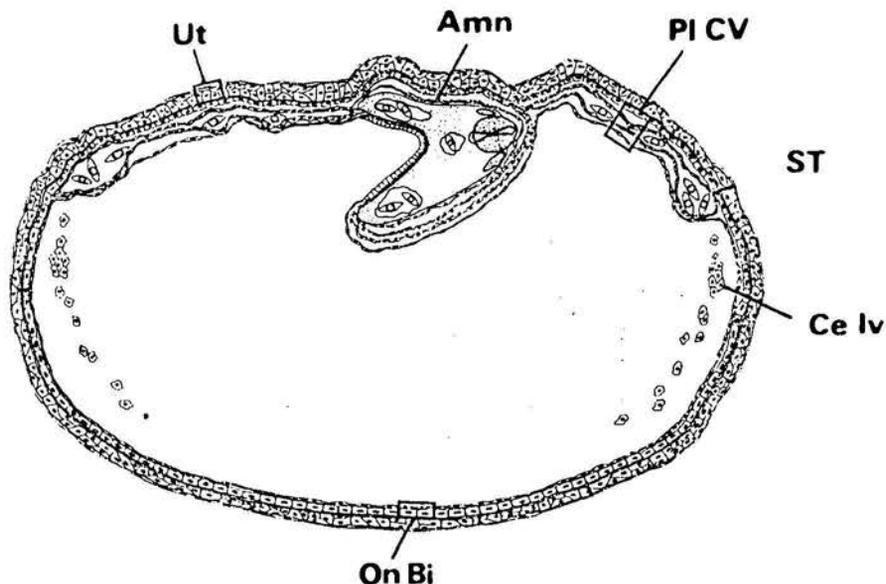
**Placenta coriovitelina.**- esta es la primera membrana extraembrionaria vascularizada que se forma durante el desarrollo embrionario; esta compuesta por endodermo, mesodermo del área vasculosa y ectodermo coriónico en yuxtaposición con el epitelio uterino (Stewart, 1990, 1993; Stewart y Blackburn, 1988) (figura 8a). Es una onfalopleura de carácter transitorio, es suplantada por el celoma extraembrionario (Stewart, 1993) y posteriormente por el corioalantoides. Este tipo de placenta se presenta en Liolaemus gravenhorti (Lemus y Badinez 1967) Gerrohonotus coeruleus (Stewart, 1985) S. bicanthalis (Guillette y Jones, 1985), S. mucronatus y S. grammicus (Villagrán, 1989).

**Onfaloplacenta.**- las membranas extraembrionarias que constituyen este tipo de placenta son: ectodermo coriónico, endodermo (independientemente de la masa de vitelo) mesodermo somático y el saco vitelino (mesodermo esplácnico y endodermo)(ver figura 8 B) en yuxtaposición con la pared uterina. Xantusia vigilis (Heimlich y Heimlich, 1950), Haplodactylus maculatus (Boyd, 1942), Tiliqua sancoides (Weekes, 1927),

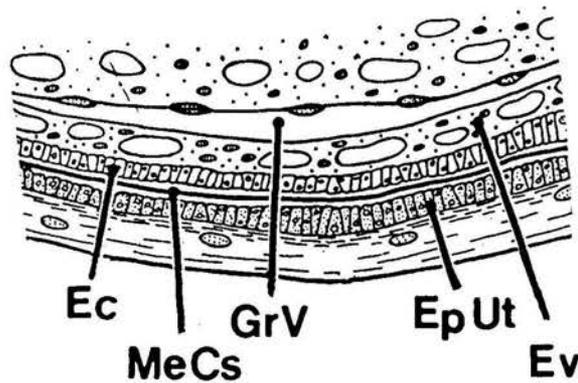
Sphenomorphus quoyi, Elgeria coerulea (Stewart, 1985), Sceloporus mucronatus, S. gramicus (Villagrán, 1989) y Virginia striatula (Stewart, 1990) presentan este tipo de placenta.

**Onfaloalantoplacenta.**- este tipo de placenta sólo se forma en los casos donde el alantoides se extiende dentro de la grieta vitelina, de tal manera que esta constituida por la onfalopleura bilaminar (ectodermo y endodermo) de la masa aislada de vitelo, mesodermo intravitelino y la membrana externa del alantoides (Stewart, 1990). Stewart (1993) señala que este tipo de placenta es característica de las serpientes como en Austrelaps superba (Denisonia superba, Weekes, 1930); Enhydrina schistosa (Kasturiragan, 1951b); Thamnophis sirtalis (Hoffman, 1970); Virginia stratula (Stewart, 1990). Sin embargo, existen reportes que también se presenta en lagartijas como en S. mucronatus y S. grammicus (Villagrán, 1989). (figura 8c).

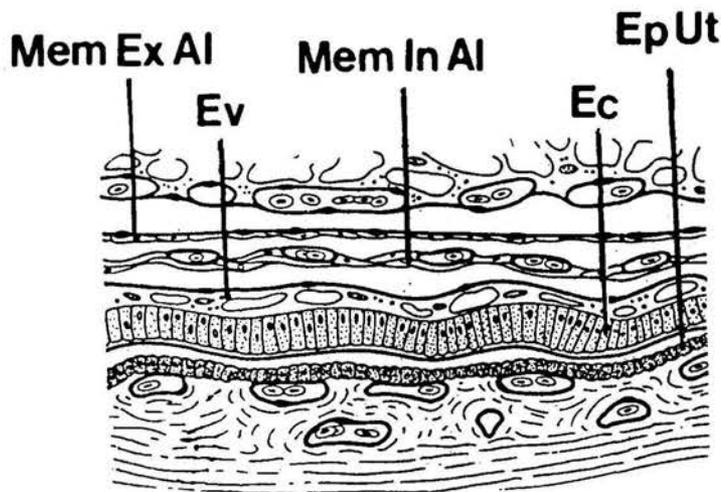
Todos los tipos placentarios anteriormente señalados se desarrollan del lado abembrionario, excepto la placenta coriovitelina que se desarrolla en las porciones laterales al embrión en desarrollo (ver figura 8 A).



**Figura 8 A .-Placenta Coriovitelina de los Reptiles.** La figura muestra el saco vitelino (S V), Amnios (Am), Placenta Coriovitelina (PI CV), Sinus Terminalis (S T), Células Intravitelinas (Ce Iv), Saco vitelino (S V), Utero (Ut) Onfalopleura Bilaminar (On Bi) (Tomada de Stewart, 1993).



**Figura 8 B: Onfaloplacenta de los Reptiles.** En la figura sólo se muestran los elementos que la constituyen: Epitelio Uterino (Ep Ut), Membrana de la Cáscara (Me Cs); Ectodermo Coriónico (Ec); Endodermo vitelino (E v); Grieta vitelina (Gr V) y Mesodermo Esplácnico (M S) (Tomada de Stewart, 1993).



**Figura 8 C.- Onfaloalantoplacenta de los Reptiles.-** En la figura sólo se presentan los constituyentes de este tipo de placenta: Epitelio Uterino (Ep Ut), Membrana de la Cáscara (Me Cs); Ectodermo Coriónico (Ec); Endodermo vitelino (En); Membrana Externa del Alantoides (Mem Ex Al); Membrana Interna del Alantoides (Mem Int Al) y Mesodermo Esplácnico (M S) (Tomada de Stewart, 1993).

**Placenta corioalantoidea.**- también llamada alantoplacenta, participan en su formación: el corión (ectodermo y mesodermo somático) y el alantoides (mesodermo esplácnico y endodermo) que se unen muy estrechamente, y se denomina comúnmente como corioalantoides (Stewart y Blackburn, 1988). Esta membrana se encuentra en estrecha aposición con el epitelio uterino, aunque suele existir la membrana de la cáscara interpuesta entre ellos durante gran parte del desarrollo embrionario. Este tipo de placenta una vez que se forma permanece a lo largo de todo el desarrollo embrionario.

La presencia de alantoplacenta es una característica distintiva de todos los reptiles y mamíferos vivíparos; en los reptiles se formó durante la evolución de la viviparidad mediante la aposición de la membrana corioalantoidea al endometrio uterino (Blackburn, 1993b). Una gran proporción de los trabajos morfológicos que se han hecho en los reptiles han sido dirigidos hacia este tipo de placenta, ya que los trabajos pioneros (Giacomeni, 1891, 1906; Studiati, 1851) mostraron la posibilidad de que tuviera una importancia relevante para que el desarrollo intrauterino del embrión a expensas de la madre fuese posible; por lo que fué postulado el paralelismo anatómico y funcional (Giacomeni, 1906) entre la alantoplacenta reptileana y la de los mamíferos. En los escamosos presenta modificaciones que usualmente se han clasificado de acuerdo a los criterios establecidos por Weekes (1935), que reconoció tres tipos definidos considerando: 1) el grado de plegamiento que se presente entre los tejidos uterinos y el corioalantoides y 2) al aspecto de las células y los tejidos que se encuentran en la interfase materno-fetal (Blackburn, 1993b; Weekes, 1935). Blackburn (1986, 1993b, 1993c) de acuerdo a sus investigaciones realizadas en especies del género Mabuya ha descubierto un tipo diferente y lo ha anexado a la clasificación de las placentas corioalantoideas. De acuerdo a lo arriba señalado las características de los subtipos de alantoplacentas son:

#### *Alantoplacenta Tipo I.*

Weekes (1935) considera a esta placenta como la más simple y la que puede ser más comúnmente encontrada entre los reptiles vivíparos. El epitelio uterino y el ectodermo son de tipo escamoso y extremadamente atenuados sobre los capilares y existe una aposición muy estrecha entre estos tejidos, lo que facilita el intercambio fisiológico entre el feto y la madre. Todos los autores aceptan (excepto Bauchot, 1965) que es la más primitiva y predecesora de los demás tipos de placentas corioalantoideas encontradas en los reptiles (Blackburn, 1993b; Yaron, 1985; Weekes, 1935) (figura 9 A). Xantusia vigilis

Hoplodactylus maculatus (Boyd, 1942) Lacerta vivipara (Panigel, 1956) Sceloporus bicantalis (Guillette, 1982 b) S. gramicus y S. mucronatus (Villagran, 1989) presentan este tipo de placenta.

#### *Alantoplacenta Tipo II.*

Esta placenta fué inicialmente descrita en síncidos del género Leiolopisma, (Weekes, 1930) es un poco más compleja que la anterior y difiere fundamentalmente en dos aspectos:

a) el epitelio luminal uterino se eleva formando bordes tenues y cada uno de ellos contiene un capilar extendido sobre el epitelio, estos bordes se sitúan sobre toda la superficie de la alantoplacenta.

b) el epitelio coriónico es cúbico y forma una capa continua que esta en aposición con el epitelio uterino. En algunas regiones los tejidos materno y fetal están tan íntimamente yuxtapuestos que las extensiones del epitelio coriónico se interdigitan con los bordes formados por el aglomeramiento de los capilares (Blackburn, 1993b) (figura 9 B).

#### *Alantoplacenta tipo III.*

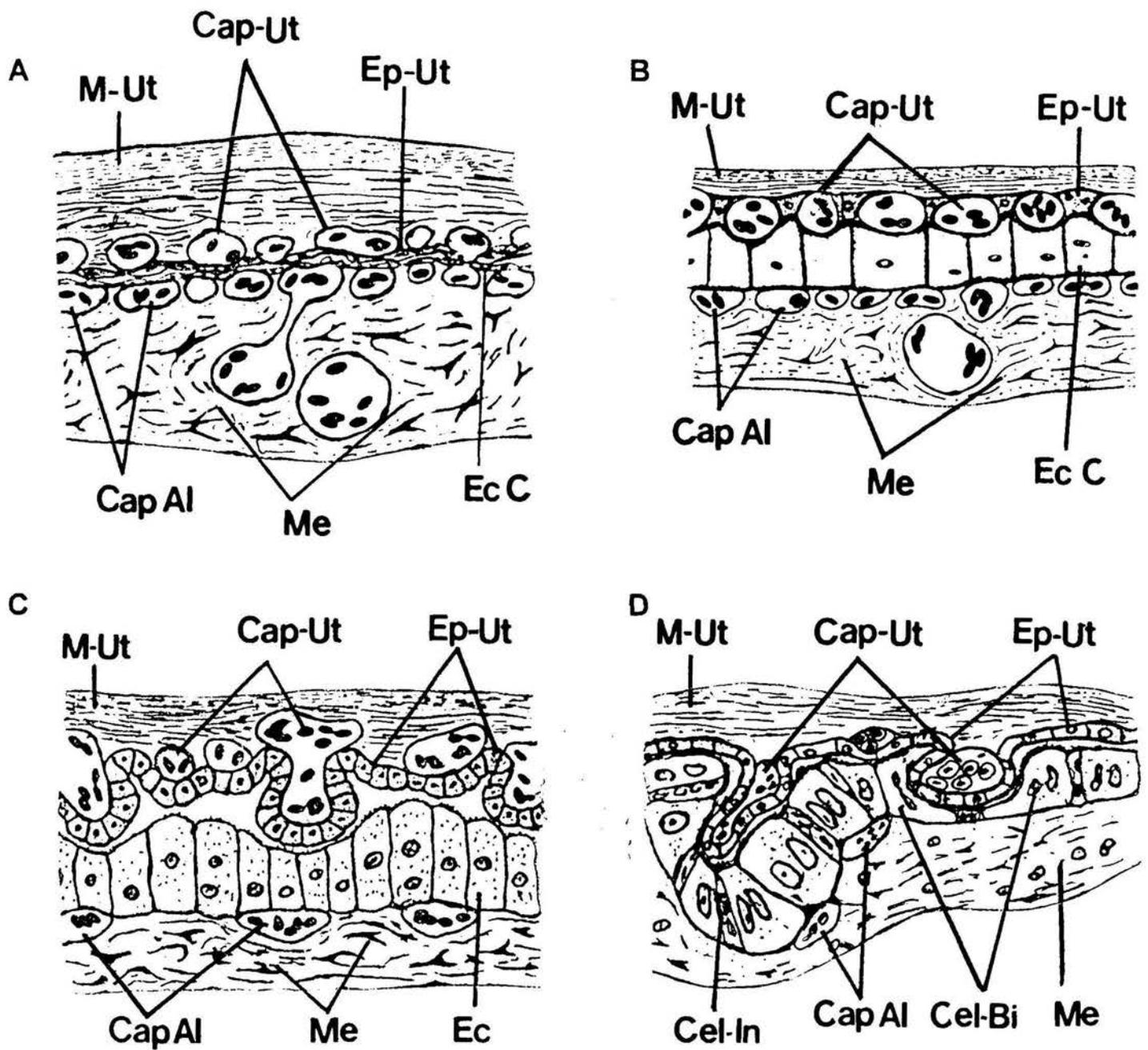
Hasta hace relativamente poco tiempo se consideraba a este tipo de placenta como la más compleja descrita para los reptiles. Weekes (1935) estableció esta categoría para la placenta de los síncidos australianos Pseudomoia entrecasteauxii y Leiolopisma spenceri y para el síncido europeo Chalcides chalcides. Este tipo de placenta es sumamente rara y hasta la fecha se ha descrito sólo otro caso, el de Vipera berus por Bellairs y col. (1955). Yaron (1985) y Blackburn (1993b) han revisado este último caso y están en desacuerdo con el autor.

Recientemente se se han realizado nuevos estudios histológicos (Blackburn, 1993) y ultraestructurales (Ghiara y col. 1987) de la placenta corioalntoidea de C. chalcides. Estos trabajos confirman las observaciones de Cate-Hoedemacker (1933) Giacomini (1891, 1906) y Luckett (1977 b) y proporcionan nuevos hallazgos. De acuerdo a estas observaciones recientes la alantoplacenta tipo III se caracteriza por formar en la región mesometrial una área elíptica que esta en íntima aposición con la pared uterina y esta constituida por placentomas. Los placentomas son áreas elípticas de tejido materno y fetal que se ubican hacia el mesometrio uterino y presentan una serie de pliegues, los cuales pueden ser poco pronunciados con un arreglo

azaroso o bien con pliegues más pronunciados y orientados longitudinalmente de acuerdo a la especie. Los pliegues contienen un conjunto de capilares cubiertos por epitelio cúbico simple. El corión se interdigita entre estos pliegues, además presenta un epitelio alto con microvellosidades y por debajo de él una gran cantidad de capilares. En el caso particular de C. chalcides los pliegues del corión se interdigitan con las vellosidades hipertrofiadas de la mucosa uterina y a los lados el paraplacentoma que no es otra cosa que el corioalantoides liso. Un hecho sobresaliente del placentoma de C. chalcides es su carácter decidual, es decir en el postpartum los placentomas contienen trozos de endometrio (Blackburn, 1993b, 1993c) y la presencia de células binucleadas ubicadas entre las células epiteliales del corion, además presenta un epitelio alto con microvellosidades y por debajo de él una gran cantidad de capilares (figura 9 C).

#### *Alantoplacenta tipo IV.*

Este tipo de placenta fue establecido por Blackburn (1984a, 1986; Blackburn 1993b) para la placenta corioalantoidea de lagartijas del género Mabuya (M. bistrata, M. heathi y M. mabouya.). La placenta de estas especies es muy diferente de las descritas anteriormente para los reptiles. Durante su desarrollo sufre profundas transformaciones originando una placenta madura muy compleja. La unidad placentaria es el placentoma, el cual se sitúa hacia la parte mesometrial debajo de la vena y arteria uterina. En este sitio del endometrio se emiten prominentes pliegues vellosos que se invaginan en el corioalantoides. Los dos tejidos se intercalan tan estrechamente que es difícil separarlos (figura 9 D). El epitelio coriónico del placentoma contiene una monocapa de grandes células polimórficas binucleadas y microvellosidades. Estas células binucleadas están rodeadas por células columnares también binucleadas pero los núcleos tienen arreglo vertical. Por debajo de este arreglo epitelial hay una gruesa capa de tejido conectivo alantoideo que presenta leucocitos, macrófagos y vasos sanguíneos. El epitelio uterino que se encuentra en aposición al corioalantoides consiste de células cúbicas a columnares con microvellosidades, en algunas áreas tienen aspecto sincitial. La región paraplacentar contiene areolas especializadas, las cuales consisten de fosas coriónicas que están situadas en aposición a las bocas de las glándulas uterinas. Las fosas coriónicas están limitadas por un epitelio de absorción (células columnares con microvellosidades). Las glándulas son abundantes en la gestación tardía.



**Figura 9.- Placentas Corioalantoideas de los Reptiles.** Se desarrollan, todas, en la región mesometrial. De acuerdo fundamentalmente a las modificaciones que sufre el corioalantoides y a las características del epitelio uterino subyacente es que se clasifican, hasta ahora, en cuatro tipos diferentes. En **A** se muestra el esquema de la Alantoplacenta tipo I; **B**, **C** y **D** muestran las alantoplacentas Tipo II, III y IV, respectivamente. **M-Ut**: Músculo Uterino; **Cap-Ut**: Capilares Uterinos **Ep-Ut**: Epitelio Uterino; **Ec-C**: Ectodermo Coriónico; **Cap-Al**: Capilares Alantoideos; **Me**: Mesenquima; **Cel-Bi**: Células Binucleadas; **Cel-In**: Célula Intersticial. De la alantoplacenta tipo IV sólo se presenta el esquema de la región del placentoma.

## ***Funciones Placentarias.***

Es necesario señalar que existen muy pocos trabajos dirigidos a estudiar la fisiología placentaria reptiliana y que las funciones atribuidas a las placentas son debidas en su mayoría a evidencias indirectas y/o a sus características histológicas.

En lo que respecta a las “placentas vitelinas”, se ha comentado que la placenta coriovitelina es el primer sitio de intercambio materno-fetal de oxígeno (Stewart, 1993), debido a que es el primer aporte circulatorio de la periferia del huevo al embrión.

Para la onfaloplacenta y la onfaloalantoplacenta debido a su estructura se ha señalado que tienen una función histiotrófica (Stewart, 1993). Hoffman (1970) ha demostrado que hay transporte de iones sodio, fierro y fósforo y del aminoácido glicina de la madre al feto; el supone que pudieran alcanzar al embrión a través de la onfaloplacenta. Conaway y Fleming (1960) han encontrado que en Natrix hay transporte de yodo y sodio, pero no específica a través de que tipo de placenta.

Para el caso de las placentas corioalantoideas se ha señalado que la alantoplacenta tipo I lleva a cabo funciones respiratorias (Giacomeni, 1906; Yaron, 1985). No hay evidencias que este tipo de placenta sea responsable del transporte de materiales orgánicos, sin embargo, en algunas especies se presume que los fetos pudieran captar agua y pequeñas cantidades de nutrientes a través de ella (Blackburn, 1993b). Se desconocen los atributos funcionales de la alantoplacenta tipo II.

Para la alantoplacenta tipo III y tipo IV se ha establecido que a nivel de los placentomas existe una amplia transferencia de nutrientes. Además de la evidencia de la estructura histológica de los placentomas y las fosas coriónicas se sabe que las hembras que presentan estos tipos de placentas producen huevos microlecitos (Blackburn, 1986, 1993; Blackburn y col 1984) por lo que el crecimiento embrionario depende fundamentalmente del aporte materno de nutrientes. Blackburn (Blackburn y col. 1984) ha reportado un incremento del 53800% del peso húmedo y un 38400% del peso seco del huevo en el curso de la gestación. Los datos anteriores demuestran la importancia del transporte placentario de nutrientes en las especies que desarrollan estos tipos de placenta.

## JUSTIFICACION Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Ya que el Homo sapiens es un animal vivíparo y puesto que los animales domésticos que lo rodean ponen huevos o bien nacen vivos, la viviparidad y la diferencia entre esta y la oviparidad han sido de interés desde tiempos inmemoriales. Así como la agricultura, la medicina, etc., han progresado de ser artes populares a áreas de sumo interés, el estudio de la viviparidad ha alcanzado también este lugar. Por razones médicas, económicas y culturales (o de otro tipo) el estudio de la viviparidad se ha centrado sobre el hombre y los mamíferos y ha sido influenciada con prejuicios antropocéntricos.

Hasta hace poco tiempo la viviparidad entre los vertebrados no mamíferos ha permanecido virtualmente ignorada, tratada como una anomalía evolutiva o una curiosidad intelectual y relegada al estatus de una nota curiosa en la historia de la biología, para confirmar esto sólo basta con comparar la cantidad de trabajos en esta área en vertebrados no mamíferos en relación a los que se realizan con los mamíferos euterios. En la actualidad el interés por el estudio de esta forma de paridad en los vertebrados no mamíferos ha resurgido con fuerza y se han formado diversos grupos de investigación alrededor de este tópico.

Los reptiles son muy atractivos para estudiarlos desde diferentes puntos de vista ya que presentan características muy interesantes entre las que destacan las siguientes: a) es el primer grupo vertebrados que desarrollan verdaderas membranas extraembrionarias, b) es el grupo de vertebrados en el cual evolucionó el huevo cleidóico, c) es el primer grupo de vertebrados que desarrollan la fertilización interna como estrategia reproductora común, y d) Son animales poiquiloterms. Debido a las características anteriormente señaladas los reptiles han sido utilizados como modelos de investigación en diferentes áreas del conocimiento; particularmente pueden ser utilizados en el estudio de la viviparidad por las siguientes razones:

1.- La viviparidad ha evolucionado de manera independiente alrededor de 132 ocasiones en la historia de los vertebrados; de éstas 15 en condroictios, 13 en osteoictios, 5 en anfibios, al menos 98 ocasiones en los reptiles y en los mamíferos ¡una sola vez! (Blackburn, 1982 a, 1992; Lilligraven, 1979).

Estos datos demuestran que dentro de los vertebrados, los reptiles son el grupo ideal para estudiar la evolución de la viviparidad.

2.- Wake (1992) ha señalado que dos escenarios son importantes en la evolución de la viviparidad: a) el cuerpo lúteo, por su capacidad de producir progesterona y b) la placenta, órgano de intercambio materno-fetal y distintivo de las especies vivíparas.

Los escamosos vivíparos (lagartijas, serpientes y anfisbaenidos) poseen estas dos características.

3.- En México existe una gran riqueza biótica de herpetofauna, debido fundamentalmente a su variación climática y fisiográfica. De las aproximadamente 6000 especies de escamosos que hay en el mundo nuestro país posee cerca del 20%, de las cuales, aproximadamente la mitad (600) son lacertilios.

Este panorama nos ofrece una gran oportunidad de realizar estudios acerca de la viviparidad en lacertilios.

4.- Lagartijas, pequeños animales son susceptibles de ser utilizados como modelos para estudiar la viviparidad por las razones arriba señaladas y además porque:

- a) son capaces de habituarse al cautiverio, y
- b) conociendo su biología básica se pueden manejar sin mucha dificultad.

Durante la transición de la oviparidad a la viviparidad han ocurrido cambios profundos en el huevo, en el embrión y en el organismo materno; con esta nueva forma de paridad el huevo perdió su cáscara, redujo su contenido de vitelo (como en el caso de *C. chalcides*, *M. heathi*), el embrión modificó sus membranas extraembrionarias para construir una estructura más eficiente que permitiera, entre otras funciones, la obtención de nutrientes directamente del organismo materno: la placenta (Blackburn, 1993 b). Una precondition indispensable para que estos cambios ocurran es que la hembra retenga sus huevos por períodos cada vez más largos durante el cual el embrión podría alcanzar estadios de desarrollo cada vez más avanzados (Callard y col. 1992, Porter y col. 1982). La selección natural favoreció a aquellas especies cuyas

hembras retuvieron sus embriones por períodos progresivamente más largos que permitieron que el desarrollo embrionario eventualmente se completara (Shine y Bull, 1979) y así, de esta manera, la viviparidad se origino de la oviparidad.

Es comúnmente aceptado que el cuerpo lúteo ha jugado un papel importante en la evolución de la viviparidad reptiliana (Callard y col. 1992; Guillette, 1980) pero su participación en la manutención de la gestación demuestra que en diversas especies ocupa un segundo término por lo que se propone que otros órganos que tienen actividad endocrina pudieran estar involucrados en el mantenimiento de la gestación, ¿y porqué no? en la evolución de la viviparidad. Diversos autores han propuesto que además del cuerpo lúteo, los folículos atrésicos (Browning, 1973; Byscov, 1978; Villagrán, 1989; Guillette y col., 1981), las glándulas adrenales (Bourne, 1972, 1981; Bourne y Seamark, 1972; Dahuphin-Villemant y Xavier, 1985) e incluso la placenta corioalantoidea (Guillette y col., 1981), pudieran participar en el mantenimiento de la gestación. Por lo que sería lógico preguntarse si los cambios en el sistema de control hormonal son los determinantes primarios en la evolución de la viviparidad reptileana.

## OBJETIVOS

De acuerdo con el marco teórico anteriormente expuesto es evidente la necesidad de desarrollar trabajos experimentales que contribuyan al esclarecimiento de los tópicos previamente señalados, por lo que en este trabajo se utilizó como modelo a la lagartija vivípara B. i. imbricata y se planteo como objetivo general:

**Determinar las características morfológicas de la placenta y el cuerpo lúteo durante la preñez de B. i. imbricata, así como la participación del cuerpo lúteo en el mantenimiento de la gestación**

Para que el objetivo general fuera cumplido se consideró necesario plantear los siguientes objetivos particulares:

- a) Establecer que tipo de placentas y durante que etapa del desarrollo embrionario se presentan.
- b) Determinar el tiempo de desarrollo e involución del cuerpo lúteo.
- c) Determinar el efecto de la lutectomía sobre el mantenimiento de la gestación y el parto.
- d) Determinar el efecto de la lutectomía sobre el tamaño de la camada.
- e) Determinar el efecto de la lutectomía en la preñez temprana sobre los niveles plasmáticos de progesterona.

## MATERIAL Y MÉTODO

Para cumplir con los objetivos anteriormente señalados se diseñó la siguiente estrategia de trabajo.

A pesar de que Guillette y Casas-Andreu (1987) han descrito el ciclo reproductor de B. j. imbricata fue necesario determinar las características reproductoras más importantes de la población utilizada en este trabajo debido fundamentalmente a dos razones: a) los animales que ellos utilizaron fueron capturados en diversas localidades de los estados de México, Morelos y Distrito Federal, sin especificar el lugar de colecta e incluyen, además, ejemplares de museo y b) como es comúnmente sabido, la actividad reproductora en los reptiles y otros vertebrados es controlada por factores ambientales como temperatura, fotoperíodo, precipitación pluvial y disposición de alimento (Duvall y col, 1982); por lo que la iniciación del ciclo reproductor de una población a otra pueden variar, de acuerdo a las condiciones ambientales, a pesar de ser de la misma especie. Debido a estas circunstancias fue necesario realizar colectas mensuales para determinar las siguientes fases reproductoras:

- a) período de apareamiento
- b) ovulación
- c) tiempo de gestación.

Las colectas mensuales concluyeron una vez que se determinó la época de nacimiento de las crías.

### a) *Período de apareamiento*

Las hembras colectadas se transportaron al laboratorio y se les practicó a cada una de ellas de uno a tres lavados cloacales para determinar la presencia de espermatozoides en la vagina. La técnica consiste básicamente en lo siguiente: se introduce la punta de una pipeta Pasteur en la cloaca con dirección hacia la vagina y se bombea varias veces una pequeña cantidad de solución salina fisiológica (aproximadamente 50  $\mu$ l) al 7% (Guillette, 1982 a). Inmediatamente después se recupera la solución y se coloca en un portaobjetos y se procede a observar la muestra al microscopio para detectar la presencia de espermatozoides.

### **b) Ovulación**

Para determinar la época de ovulación inicialmente se practicó la técnica de laparotomía para la observación de cuerpos lúteos en el ovario. En el último año de experimentos, 1995, se aplicó la técnica de palpación abdominal para determinar la ovulación (Cuéllar, comunicación personal).

### **c) Período de gestación**

Una vez que se determinó el período de ovulación se colectaron hembras gestantes a las cuales se les practicó laparotomía para observar la cicatrícula para confirmar que el desarrollo ya se había iniciado. Se asistió periódicamente al campo para determinar en que época del año había crías recién nacidas. Además se colectaron hembras gestantes en la última etapa de la preñez para permitir que las crías nacieran en el laboratorio.

## ***I.- Placentación***

Embriones *in utero* de hembras gestantes fueron obtenidos mensualmente a lo largo de la gestación (de diciembre a mayo del siguiente año y fijados inmediatamente en formol al 10% amortiguado. (ver apéndice A). Posteriormente fueron lavados en agua corriente y procesados por la técnica de Yaron (1971) para huevos telolécitos (ver apéndice A), aclarados en xileno e incluidos en parafina. Se elaboraron cortes histológicos seriados y posteriormente se tiñeron con Hematoxilina y Eosina (Humasson, 1968, ver apéndice). Algunos cortes de embriones en estado avanzado de desarrollo se les aplicó la técnica de Ácido Peryódico de Shift (Luna, 1968 ver apéndice) para la observación adecuada de la membrana de la cáscara ya que con la técnica de Hematoxilina y Eosina fue difícil distinguirla en los estadios avanzados. Los cortes se revisaron al microscopio de luz para determinar el tipo de placenta así como sus características histológicas. En el caso de la alantoplacenta madura (entre los estadios 37 al 40 de desarrollo embrionario) los cortes histológicos fueron reprocesados para observarlos al microscopio electrónico (ver la técnica de reprocesamiento en el apéndice) y confirmar algunas de las características encontradas al microscopio de luz.

Los embriones que se encontraban en el útero contralateral se fijaron en formol al 10% amortiguado y fueron utilizados para tipificar el estadio de desarrollo embrionario de acuerdo a la tabla elaborada por Dufaure y Hubert (1961) para Lacerta vivipara y de esta manera establecer el tiempo en que se presentan los diferentes tipos de placentas.

## ***II.- Cuerpos lúteos***

Los ovarios de las hembras utilizadas para el estudio de la placenta fueron preservados en el mismo fijador y procesados para la técnica histológica de rutina (Luna, 1968, ver apéndice). Se elaboraron cortes seriados que fueron teñidos con Hematoxilina y Eosina (ver apéndice). Finalmente se examinaron al microscopio de luz para determinar, de acuerdo a los criterios de Guraya y Varma (1976) Varma y Guraya (1970) y Saidapur (1982) y lo que particularmente se observó en B. i. imbricata las etapas de desarrollo y degeneración del cuerpo lúteo a lo largo de la gestación.

## ***III.- Lutectomía y extirpación de los folículos atrésicos***

Se colectaron hembras cercanas al período de ovulación y se transportaron al laboratorio, se registro el peso corporal y la longitud hocico-cloaca y se marcaron mediante ectomización de falanges.

Una vez que se detectó la ovulación, y por consiguiente el inicio del desarrollo embrionario, se procedió a establecer 2 lotes de trabajo.<sup>o</sup>

### ***Lote I***

Este lote fue diseñado para determinar la importancia de los cuerpos lúteos (CLs) y de los folículos atrésicos vitelogénicos (FAV) desde el inicio de la gestación hasta completar el primer mes de preñez. Este lote estuvo constituido por 3 grupos de trabajo.

**Grupo I-A. (Grupo experimental: lutectomía y extirpación de los folículos atrésicos)**

Tres a seis días después de haber detectado la ovulación se procedió a efectuar lutectomía y extirpación bilateral de folículos atrésicos vitelogénicos bajo condiciones de anestesia profunda inducida con éter. Se registro el número de CLs obtenidos y se procedió a fijarlos en formol al 10%

amortiguado (ver apéndice A). Se suturó a las hembras y una vez recuperadas de la anestesia se separaron individualmente en terrarios y se mantuvieron en cautiverio en condiciones de laboratorio (14 h. luz 10 h. oscuridad; temperatura ambiental de 20 + 4 C) con agua y alimento (Larvas de Tenebrio molitor) **ad libitum** por un período de al menos 30 días. Durante este tiempo se revisó diariamente, hasta en 4 ocasiones, los terrarios para detectar la expulsión de crías (aborto). Una vez concluido este período se procedió a sacrificar a las hembras para verificar la ausencia de CLs y de FAVs y el número de embriones **in utero** y/o en su estómago.

### **Grupo I-B (Grupo control con laparotomía)**

A las hembras que constituyeron este grupo se les practicó laparotomía en condiciones de anestesia profunda tres a seis días después de haber detectado la ovulación. Una vez abierta la hembra se expusieron los ovarios y se registró el número de CLs, una vez realizado todo esto se procedió a suturarla. En cuanto los animales se recuperaron de la anestesia se aislaron individualmente en terrarios y se mantuvieron en cautiverio bajo las mismas condiciones, durante el mismo lapso de tiempo y se realizaron las mismas observaciones que en el grupo anterior. Una vez concluido el período de observación, se procedió a disectar a la hembra y se registró el número de embriones en el útero y/o en su estómago.

### **Grupo I-C. (Testigo)**

Se aislaron individualmente en terrarios hembras intactas y se mantuvieron en cautiverio bajo las mismas condiciones y durante los mismos tiempos en que se trabajaron los animales de los grupos anteriores para realizar las observaciones señaladas para el grupo experimental. Una vez concluido el período de observación se procedió a disectar a las hembras para registrar el número de embriones y de CLs.

## ***Lote II***

Este lote fue diseñado para determinar la importancia del cuerpo lúteo en el mantenimiento de la gestación a partir del inicio del segundo mes de preñez hasta el nacimiento de las crías, así como el efecto de la remoción de los CLs en el tamaño de la camada para lo cual se formaron tres grupos de trabajo.

### **Grupo II-A (Experimental: Iutectomía)**

Al principio del segundo mes de la gestación (es decir los primeros días del mes de enero) cuando los embriones han superado el estadio 12 (hembras preñadas de la primera semana de enero) de acuerdo a la tabla de desarrollo de Dufaure y Hubert (1961) y bajo condiciones de anestesia profunda se practicó la Iutectomía bilateral a las hembras preñadas. Se registró el número de CLs extirpados y se fijaron en formol al 10% amortiguado para su posterior procesamiento. Se suturó a las hembras y una vez recuperadas de la anestesia se separaron individualmente en terrarios en condiciones de laboratorio (14 h. luz 10 h. oscuridad; temperatura ambiental de 20 + 4 C) con agua y alimento (larvas de Tenebrio molitor) **ad libitum** para mantenerlas en cautiverio hasta el nacimiento de las crías.

### **Grupo II-B (Control con laparatomía)**

También bajo condiciones de anestesia profunda y al inicio del segundo mes de la gestación hembras preñadas fueron sometidas a laparotomía, se localizó el ovario y se registró el número de CLs. Al igual que en el grupo 2A las hembras suturadas una vez recuperadas de la anestesia fueron separadas individualmente en terrarios y mantenidas en las mismas condiciones de cautiverio que el grupo anterior hasta el momento del nacimiento de las crías.

### **Grupo II-C (Grupo testigo)**

Durante los mismos tiempos en que se trabajaron los animales de los grupos 2 A y 2 B se aislaron individualmente en terrarios hembras preñadas intactas y se mantuvieron en cautiverio, en las condiciones ya descritas para los grupos anteriores, hasta el nacimiento de las crías.

Para cada uno de estos tres grupos de trabajo se registraron durante la observación en cautiverio la frecuencia de los siguientes eventos:

- a) aborto
- b) parto prematuro.
- c) parto disociado.
- d) parto normal.
- e) parto retardado.
- f) tamaño de la camada.

Una vez que el parto concluyó todas las hembras fueron sometidas a laparotomía para determinar:

- 1) La ausencia de CLs en el grupo experimental.
- 2) Registrar el número de CLs en el grupo testigo.
- 3) Determinar la presencia de huevos infértiles y/o embriones en los estómagos de los animales de los tres grupos de este lote.

#### ***IV.- Efecto de la lutectomía sobre los niveles plasmáticos de progesterona***

La observación previa de que los CLs permanecen activos durante el primer tercio de la preñez (diciembre y enero) en Barisia i. imbricata y que los primeros signos de regresión luteal se presentan al inicio del tercer mes del embarazo, así como los resultados obtenidos de los experimentos acerca del efecto de la lutectomía crearon la necesidad de determinar el efecto de la lutectomía sobre los niveles plasmáticos de la progesterona cuando los CLs están histológicamente activos, es decir, en el primer tercio de la preñez y al inicio de la regresión lútea.

A cinco hembras preñadas al inicio del primero, segundo y tercer mes de la gestación, se les tomó una alícuota de 400 $\mu$ l de sangre con una jeringa heparinizada, se centrifugó a 3000 rpm durante 3 minutos, se decantó el plasma y se congeló a -20 C hasta el momento del ensayo. Ese mismo día se les practicó lutectomía bilateral bajo condiciones de anestesia profunda. Una vez recuperadas se les aisló en terrarios individuales y se les mantuvo en cautiverio con agua y alimento **ad libitum**. Ocho días después del tratamiento quirúrgico se tomó a estas mismas hembras otra alícuota de 400  $\mu$ l de sangre con una jeringa heparinizada; se centrifugaron las muestras a 3000 rpm, se decantó el plasma y se mantuvo a -20 C hasta el momento del ensayo. Para medir los niveles plasmáticos de progesterona a cada una de las alícuotas de plasma obtenido de las hembras preñadas se le aplicó la técnica de radioinmunoanálisis (RIA) de acuerdo al método descrito en el programa de producción de reactivos de la Organización Mundial de la Salud para inmunoanálisis. (ver apéndice ).

## ***Análisis estadístico de los datos***

Los resultados obtenidos de los experimentos acerca del efecto de la lutectomía en la preñez temprana fueron analizados mediante Análisis de Varianza (Anova) Ponderada para un Factor y la Prueba de Fisher (utilizando el programa Microstat y Estadistics) (Daniel, 1977, Ambrose y Ambrose, 1987).

Para valorar el efecto de la lutectomía sobre el tamaño de la camada también se aplicó el Anova Ponderada para un Factor y la Prueba de Fisher (Daniel, 1977).

Finalmente, los datos obtenidos acerca de el efecto de la lutectomía sobre los niveles de progesterona plasmática fueron analizados mediante la prueba de T de Student Pareada (Duran y col., 1986).

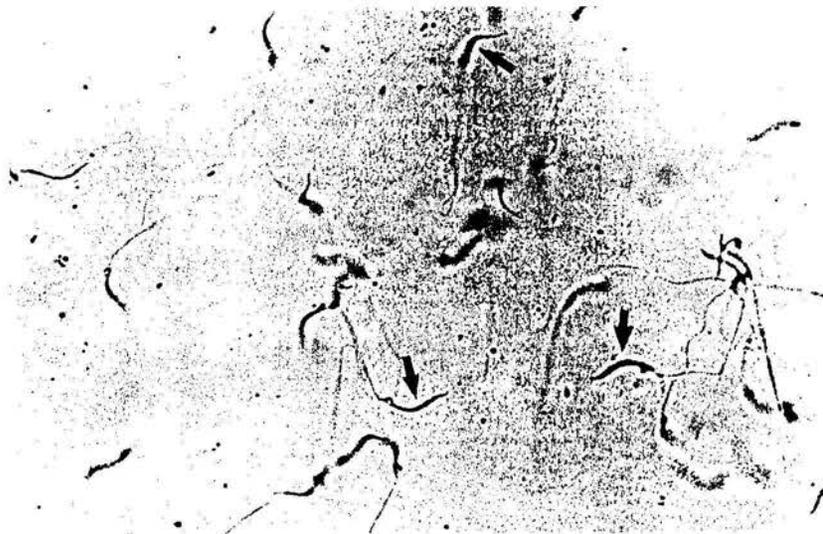
## RESULTADOS

### ***Determinación de las fases reproductoras más importantes de Barisia i. imbricata.***

El trabajo de campo se inició en septiembre de 1991. En este mes las hembras colectadas (8 organismos) se encontraban en la fase de vitelogénesis ya que al efectuar la laparotomía se observó que en el ovario ya existían folículos vitelogénicos, pero no se observaron espermatozoides en el lavado cloacal.

#### ***a) Periodo de apareamiento.***

En la segunda quincena del mes de octubre se colectaron 9 hembras adultas y sólo 3 de ellas presentaron espermatozoides en sus lavados cloacales (ver figura 10). Todas las hembras colectadas en la segunda quincena de noviembre (17 de noviembre, 8 ejemplares) presentaron esperma en su lavado cloacal. En los años siguientes (1992, 1993 y 1994) se ha detectado la presencia de espermatozoides en todas las hembras capturadas en el mes de noviembre. De acuerdo a la anteriormente observado, el apareamiento en esta población de B. i. imbricata ocurre en octubre y noviembre. Cabe señalar que la presencia de espermatozoides fue detectada hasta los meses de enero y febrero del año siguiente.



**Figura 10.- Espermatozoides de Barisia i. imbricata.** La flecha señala la presencia de espermatozoides en el lavado cloacal de las hembras colectadas a fines de octubre.

### ***b) Período de ovulación.***

La ovulación ocurrió a finales del mes de noviembre, aunque en algunas hembras sucedió durante el mes de diciembre (4 de 55 = 7.27%) y ocasionalmente se encontraron animales que aún no han ovulado en la primera quincena de enero (1 de 39 = 2.56 %).

### ***c) Período de gestación.***

Al practicar laparatomía para verificar la presencia de huevos oviductales los primeros días del mes de diciembre, se observó la presencia de un área blanquecina en forma de casquete en los huevos uterinos, dirigida hacia la región del mesometrio, dicha área recibe el nombre de cicatrícula y es la evidencia de que el desarrollo se ha iniciado. En los meses siguientes se hicieron visitas al campo y fue hasta la segunda quincena de mayo en que ocasionalmente se observaron crías de B. i. imbricata. Cabe señalar que por este mes se colectaron hembras aún preñadas (figura 11) y que el parto ocurrió en el laboratorio durante los primeros días de junio.

De acuerdo a estas observaciones establecimos que la preñez se inicia los últimos días de noviembre y concluye a finales del mes de mayo y/o principios de junio. Esta variación resulta natural pues no todas las hembras ovulan al mismo tiempo, por lo que se puede afirmar que la gestación de B. i. imbricata dura en promedio seis meses.

Ocasionalmente se acudió en los meses de verano y se encontró que a finales de julio y principios de agosto se inicia la vitelogénesis.

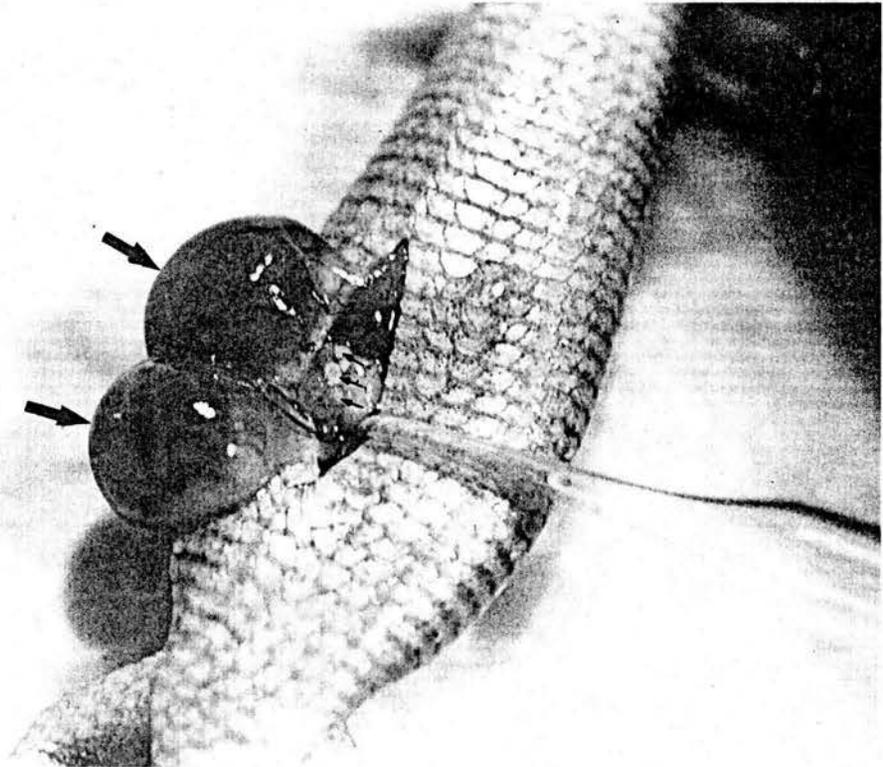


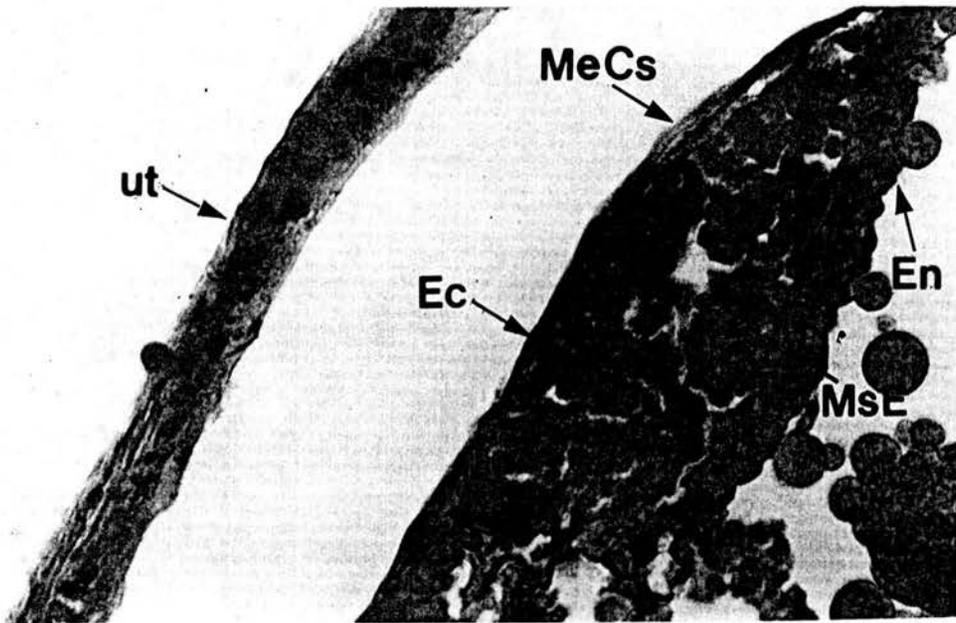
Figura 11.- Crías in utero de *Barisia. j. imbricata*. En la fotografía se observan fetos en estadios finales de desarrollo (→) así como cuerpos lúteos (→) en el ovario.

## ***I Placentación.***

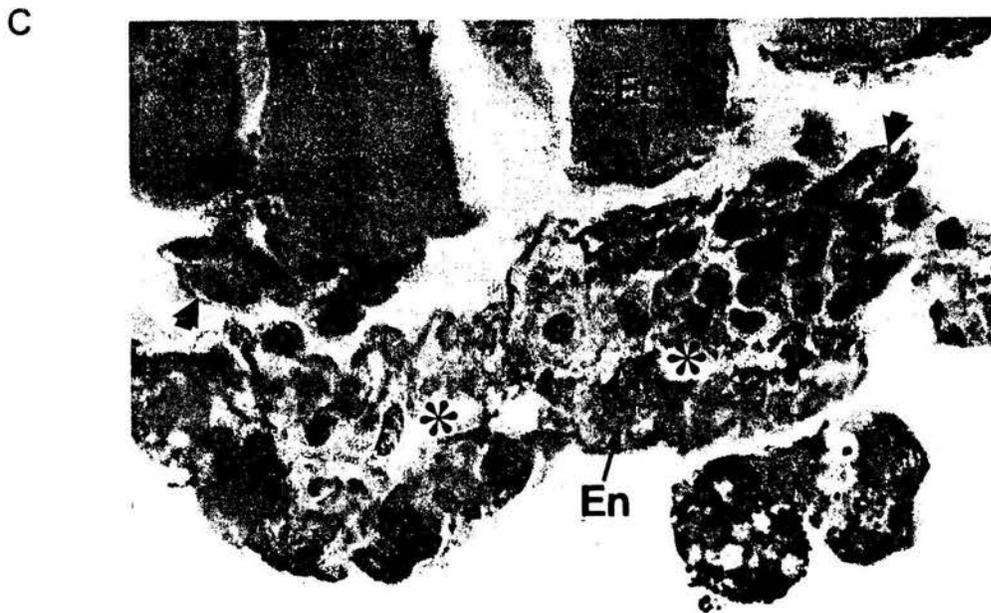
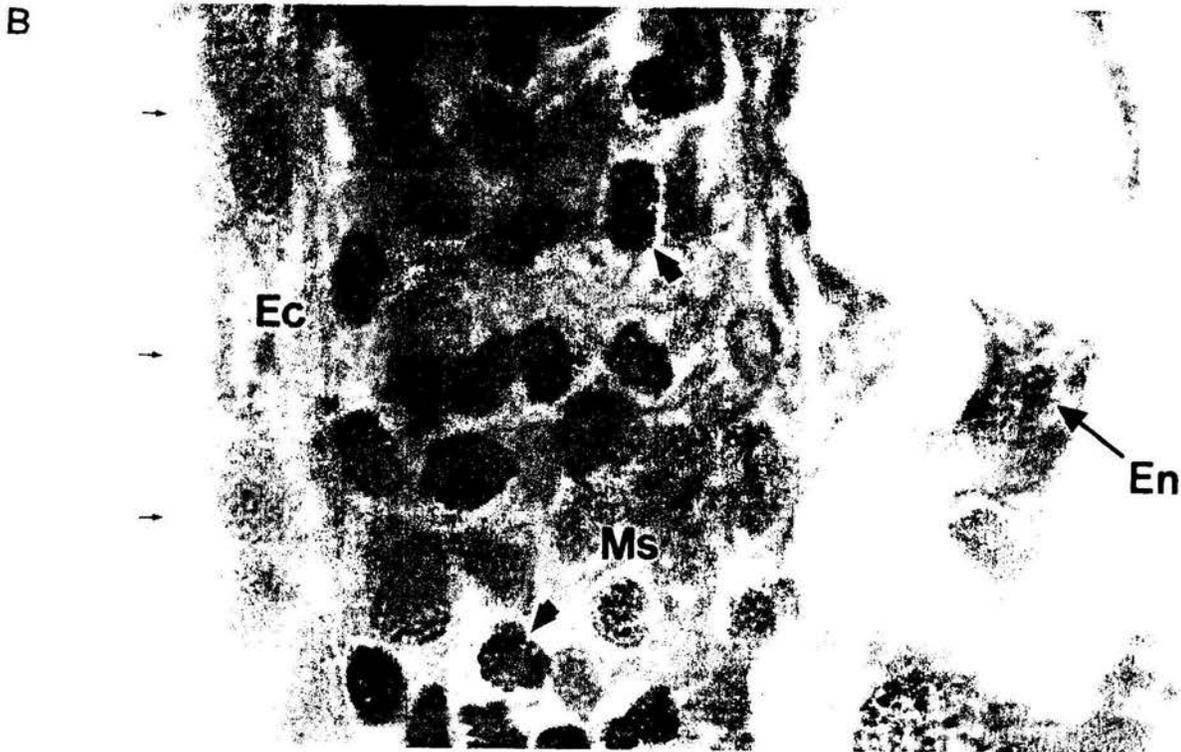
En B. i. imbricata sólo se presentan tres morfotipos placentarios: la placenta coriovitelina, la onfaloplacenta y la alantoplacenta tipo II. Se describen tres fases de desarrollo placentario de acuerdo fundamentalmente los criterios establecidos por Stewart y Blackburn (1988) para Guerrhonotus coeruleus (Blackburn, 1985) y a las características particulares más notorias que se observaron durante la formación de los tres tipos de placentas en la especie estudiada.

### ***Fase I***

El huevo telolécito de B. i. imbricata distiende las paredes del útero en las cámaras de incubación durante toda la gestación. La mucosa está limitada por un epitelio simple escamoso, adyacente al cual, se encuentra la membrana de la cáscara. La placentación se inicia cuando el ectodermo y endodermo extraembrionario se expanden sobre el vitelo y antes de que cubran toda la superficie aparece entre ellas el mesodermo extraembrionario como una masa de células hacia la región ventrolateral del embrión (figura 12 A); inmediatamente después se inicia en este lugar la hematopoyesis y se forman algunas pequeñas cavidades en la masa de células mesodérmicas, originándose de esta manera la placenta coriovitelina (ver figura 12 A y 12B). Esta es una pleura trilaminar, constituida por endodermo, mesodermo del área vascular y ectodermo en estrecha aposición con el útero; esta situada en las porciones laterales al embrión, por encima del ecuador del huevo embrionado y ventralmente está limitada por el sinus terminales. En la masa de vitelo, por debajo del ecuador, se pueden observar unas células alargadas, las células intravitelinas, que limitan a la grieta vitelina en formación (figura 12 C) y la onfalopleura bilaminar (figura 12 D). La membrana de la cáscara que rodea a todo el huevo embrionado es bastante delgada (figura 12 D). Los embriones que presentan este tipo de placenta ya han formado el amnios se encuentran entre los estadios 15 al 22 de desarrollo y corresponden a embriones de la segunda y tercera semana de enero. Inmediatamente después de que las cavidades en la masa de células mesodérmicas coalescen la placenta coriovitelina es sustituida por el celoma extraembrionario.



**Figura 12 A .-Fase I de la Placentación: Placenta Coriovitelina (Masa de Células Mesodérmicas).** La fotografía muestra el estadio mas precoz en la formación de la placenta coriovitelina. Se observa la pared uterina (ut); Membrana de la Cáscara (Me Cs); Ectodermo (Ec); Mesodermo Extraembrionario (Ms E), Endodermo (En) (256 X).



**Figuras 12 B y C.- Fase I de la Placentación: Placenta Coriovitelina.** La fotografía muestra los tejidos embrionarios que forman la placenta coriovitelina; se observa Ectodermo (Ec) Endodermo (En), Membrana de la Cáscara (-); las puntas de flecha señalan los capilares sanguíneos que se han formado del mesodermo, también se observan pequeñas cavidades (\*), (Figura A, 1125 X; Figura B, 380 X).

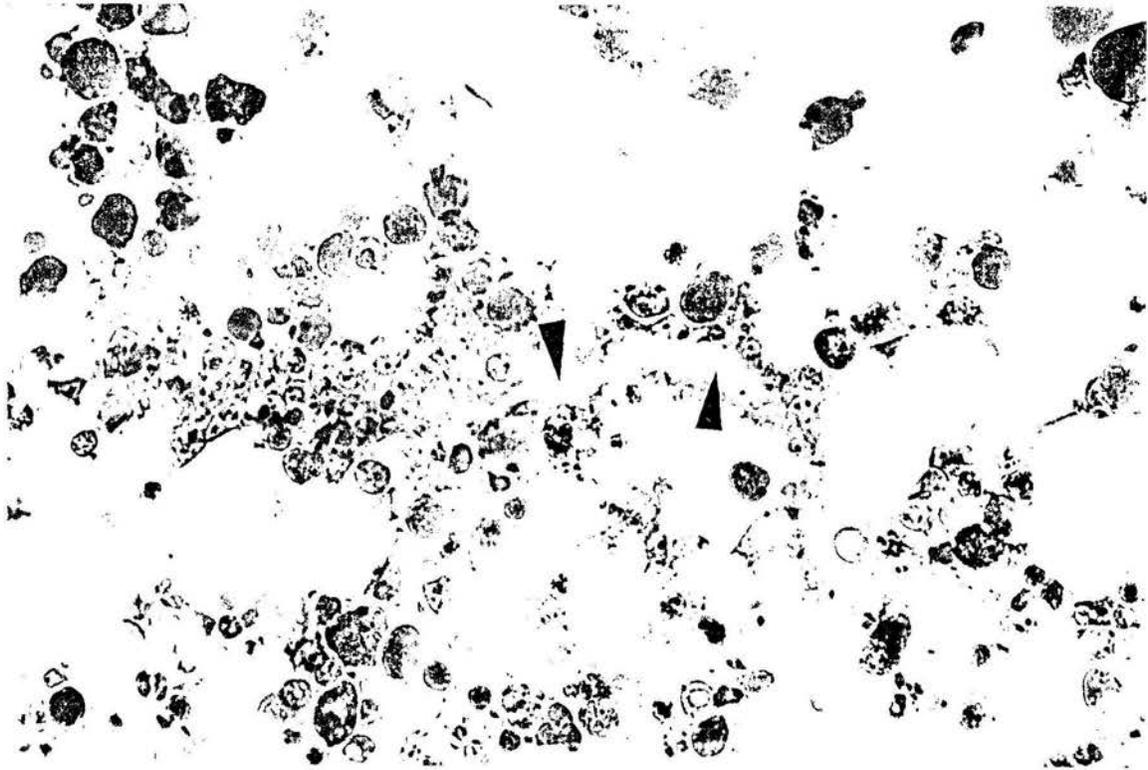
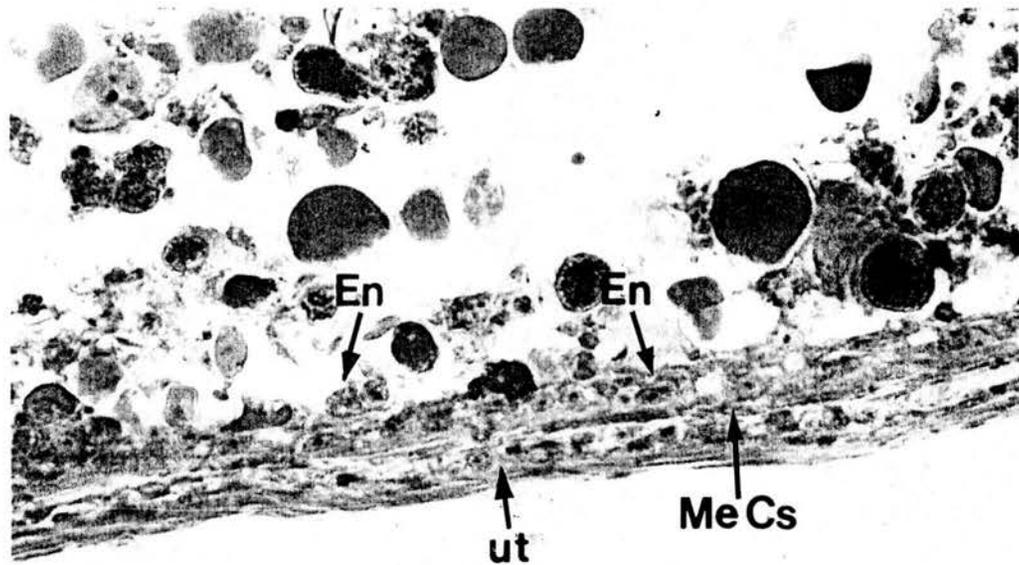


Figura 12 D.- *Fase I de la Placentación: Grieta Vitelina* . Las flechas señalan las células intravitelinas que rodean a la grieta vitelina (►)(256 X).



**Figura 12 E.- Fase I de la Placentación: Onfalopleura Bilaminar.** En la región abembrionaria de los críos en desarrollo que presentan placenta coriovitelina se observa la onfalopleura bilaminar compuesta por Endodermo (En), Ectodermo (Ec); también se observa la Membrana de la Cáscara (Me Cs) y la pared uterina (ut) (256 X).

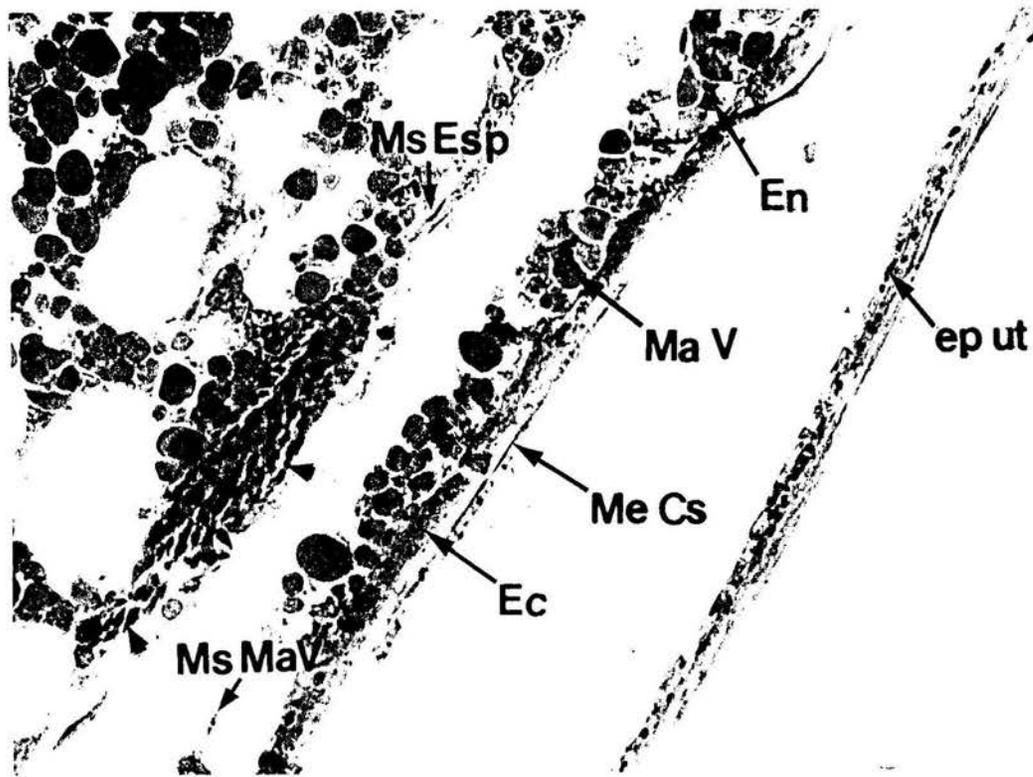
## ***Fase II***

Esta fase se caracteriza por la formación de la onfaloplacenta en la región abembrionaria y porque la membrana externa del alantoides junto con la serosa (ectodermo y somatopleura) en aposición con la pared uterina forman la placenta corioalantoidea en la región embrionaria.

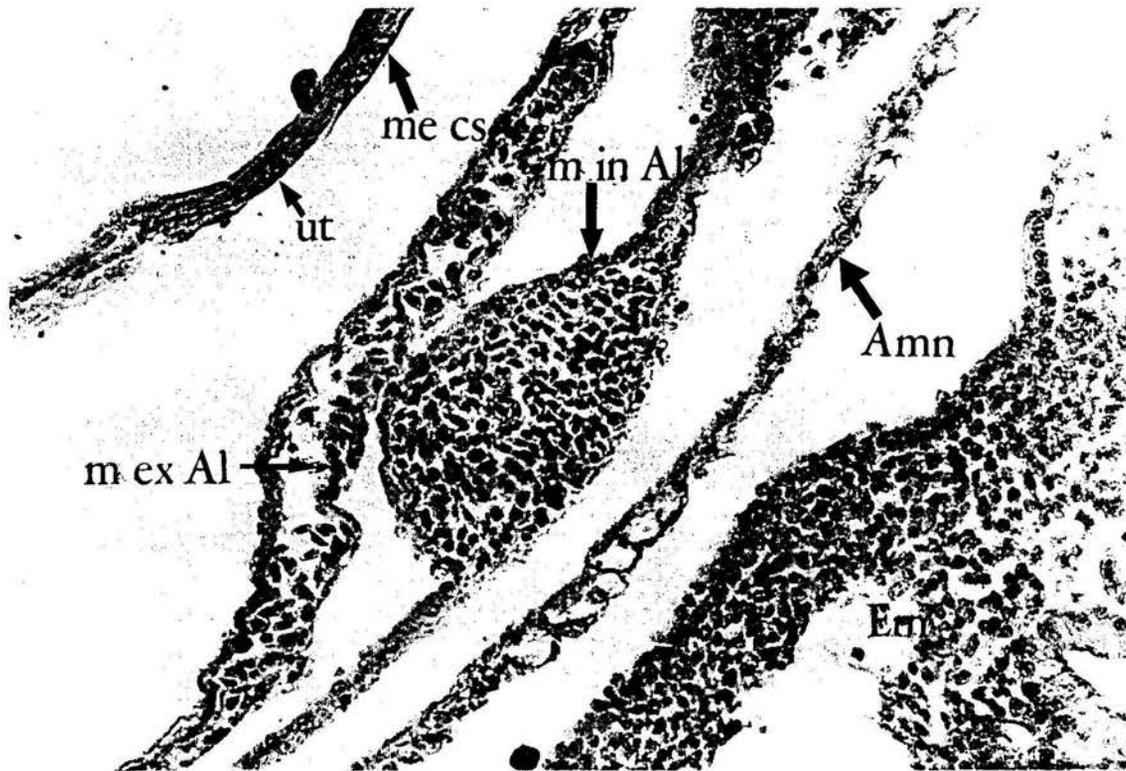
Los embriones, obtenidos la primera semana de febrero, que se encuentran entre los estadios 25 al 28 de desarrollo, presentan una banda de células intravitelinas que se extienden desde el sinus terminalis de manera paralela a la circunferencia del saco vitelino. Esta banda se separa en dos hojas formándose de esta manera la grieta vitelina. La formación de esta grieta da como resultado la formación de la masa aislada de vitelo y de la onfaloplacenta (figura 13). En los cortes histológicos se identifica la onfalopleura bilaminar de la masa aislada de vitelo (ectodermo coriónico y endodermo) y el margen de mesodermo de la masa aislada de vitelo y la esplacnopleura (figura 13) en aposición al epitelio uterino como constituyentes de la onfaloplacenta. El ectodermo coriónico esta formado por una capa de células cúbicas altas o columnares (figura 13). La vesícula alantoidea ocupa rápidamente la cavidad del celoma extraembrionario creciendo fundamentalmente hacia la región dorsal. La aposición estrecha de la membrana externa del alantoides a la superficie interna del corión produce una membrana muy delgada conocida como corioalantoides. Esta membrana incrementa su vascularización conforme avanza la gestación. El corioalantoides se coloca en aposición con la pared uterina formando de esta manera la placenta corioalantoidea (figura 14 A). El límite de extensión de ésta, lo marca el margen de la masa aislada de vitelo (figura 14 B). La membrana de la cáscara se encuentra interpuesta entre los tejidos fetales (que forman la onfaloplacenta y la alantoplacenta) y el epitelio uterino (figuras 13 y 14 A y 14 B).

## ***Fase III***

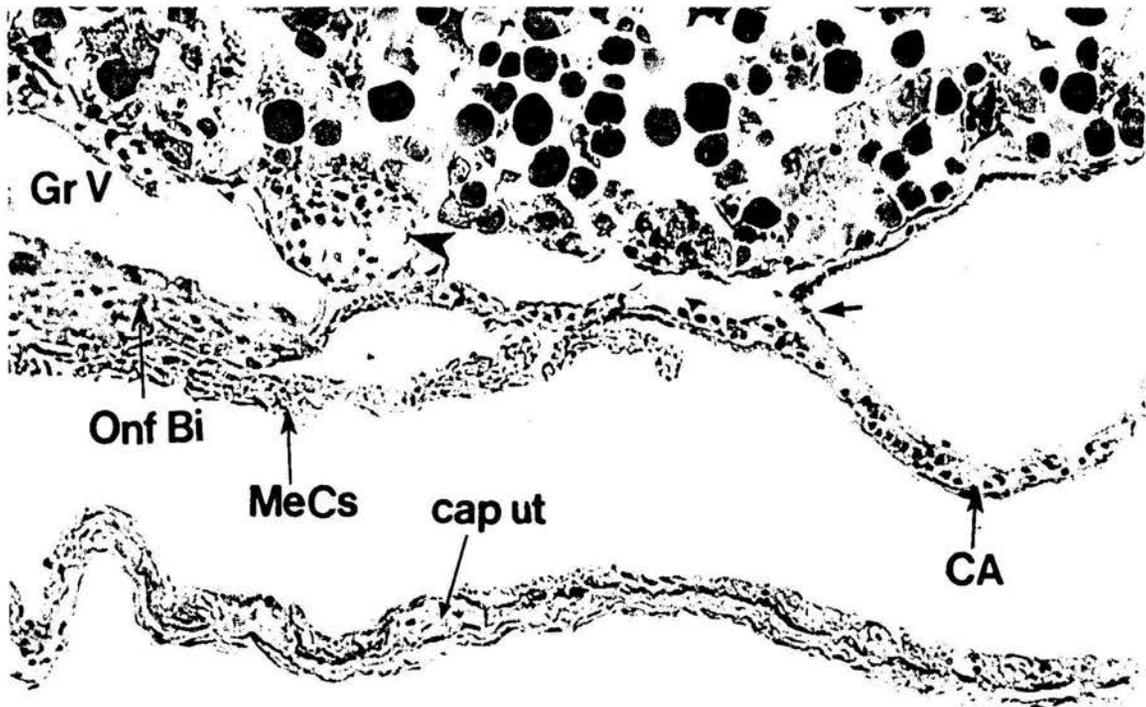
Esta última fase de la placentación se ha establecido con base en: a) los cambios transitorios que ocurren en la placenta corioalantoidea, b) a la formación de pliegues e hipertrofia del ectodermo de la onfaloplacenta y c) a la reducción de la onfaloplacenta. Tales cambios se detectan con mucha claridad en los embriones obtenidos a partir de la última semana de marzo y la primera de abril que se ubican en los estadios 37 al 40 de desarrollo.



**Figura 13.- Fase II de la Placentación: La Onfaloplacenta.** Esta constituida por la onfalopleura bilaminar constituida de ectodermo (**Ec**) y endodermo (**En**), la masa aislada de vitelo (**MaV**), el margen de mesodermo de la masa aislada de vitelo (**Ms MaV**); y mesodermo esplácnico (**Ms Esp**) rico en vasos sanguíneos (puntas de flecha). La membrana de la cáscara (**Me Cs**) se encuentra interpuesta entre estos tejidos extraembrionarios y la pared uterina, la cual esta limitada por epitelio plano simple (→)(256 X).



**Figura 14 A.- Fase II de la Placentación: La Alantoplacenta.** En esta fotografía es posible observar la fase más precoz de la formación de la alantoplacenta. En ella se muestra la membrana externa (M E Al) e interna (M I Al) del alantoides las cuales se encuentran ampliamente vascularizadas. También se observa la membrana amniótica (Amn) y la membrana de la cáscara (Me Cs) que se encuentra interpuesta entre las membranas extraembrionarias y la pared uterina (Ut) (125X).



**Figura 14 B.- Fase II de la Placentación: Limite de la Alantoplacenta.** La fotografía muestra el límite de la alantoplacenta y la onfaloplacenta. Se observa la membrana Corioalantoidea (CA); Membrana de la Cáscara (MeCs) la Onfalopleura Bilaminar (Onf Bi); la Grieta Vitelina (Gr V) y los capilares sanguíneos del Mesodermo Esplácnico (►) en aposición a la pared uterina, rica también en capilares (cap ut) (125 X).

El corioalantoides de la alantoplacenta esta ampliamente vascularizado y presenta una hipertrofia transitoria hacia la región dorsal del embrión (figura 15 A) en la que es posible observar en su borde externo células binucleadas, (figura 15 B). Estas células, al igual que sus núcleos, son grandes en relación a las células uninucleadas circundantes; poseen cromatina descondensada y un nucleolo evidente. Estas observaciones fueron confirmadas al observar este tejido al microscopio electrónico (figura 15 C y 15 D). En esta región la membrana de la cáscara ha desaparecido y en las porciones circundantes se encuentran trazas de ella (figura 15 E). Al observar esta zona al microscopio electrónico las fibras presentan una organización heterogénea (figura 15 F) y el bandeo transversal característico de las fibras de colágena (figura 15 G). La pared uterina presenta una serie de pequeños pliegues, dentro de los que destacan vasos sanguíneos y glándulas. En el epitelio superficial hay pequeños capilares que dan la apariencia de estar interpuestos entre las células epiteliales (figuras 15 H, I). En las áreas laterales a la región hipertrofiada el corioalantoides es liso y la membrana de la cáscara también pierde su integridad, incluso es difícil observarla, la pared uterina esta limitada por epitelio plano simple, en algunos lugares es posible observar estructuras glandulares. El ectodermo de la onfaloplacenta es columnar simple (figura 16 A) y ha formado una serie de vellosidades, la membrana de la cáscara, en esta región, es muy gruesa, es acidófila PAS positiva y presenta una serie de pliegues que se intercalan con los del ectodermo de la onfaloplacenta (figuras 16 A, B). En esta misma región, en embriones de estadios más avanzados (39 y 40) la membrana de la cáscara es de aspecto laxo y se encuentra infiltrada por células, entre las que destacan los leucocitos eosinófilos. Poco antes del parto la membrana de la cáscara se retrae, el aspecto compacto que tenía se pierde y la abundancia de eosinófilos es mayor (figura 17), también es posible observar eosinófilos en el endometrio. A pesar de que el consumo de vitelo provoca la reducción de la onfaloplacenta ésta permanece hasta el final del desarrollo. El estudio histológico de los anexos embrionarios que abandonan las crías después del parto, demuestran la presencia de pequeñas cantidades de vitelo dentro del saco vitelino, residuos de la membrana de la cáscara y restos de la onfaloplacenta y alantoplacenta (figuras 18, 19A, 19B ).

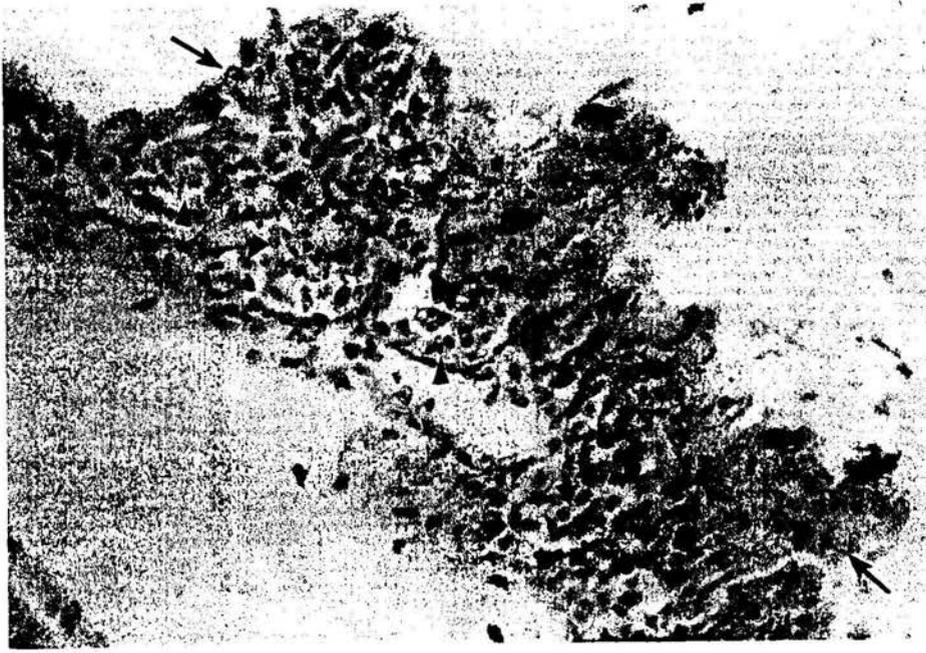


Figura 15 A - *Fase III de la Placentación: Zona Hipertrofiada del Corioalantoides*. Esta región se ubica hacia la región mesometrial, la fotografía muestra la abundancia de capilares sanguíneos (▴) presentes en la zona hipertrofiada (→) (125 X).

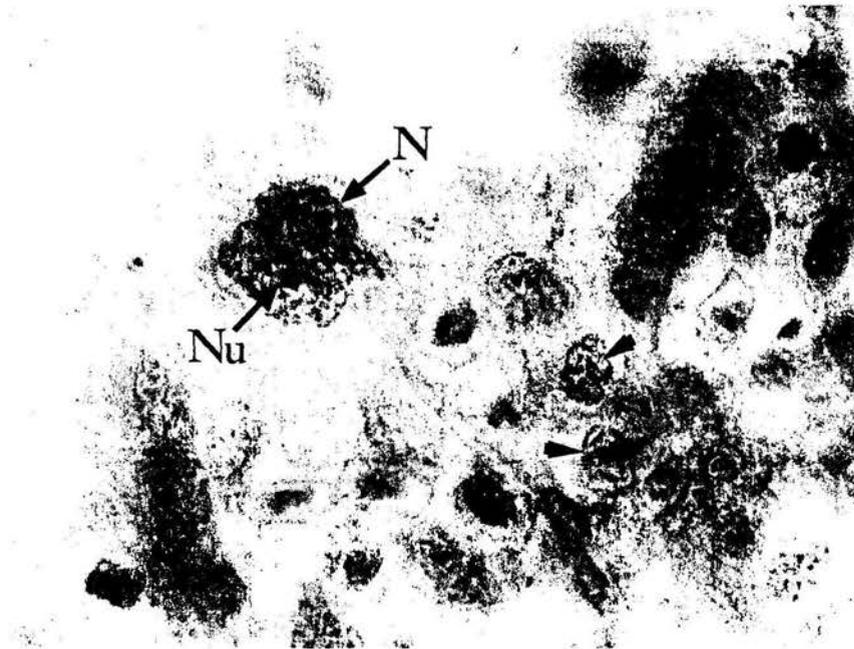
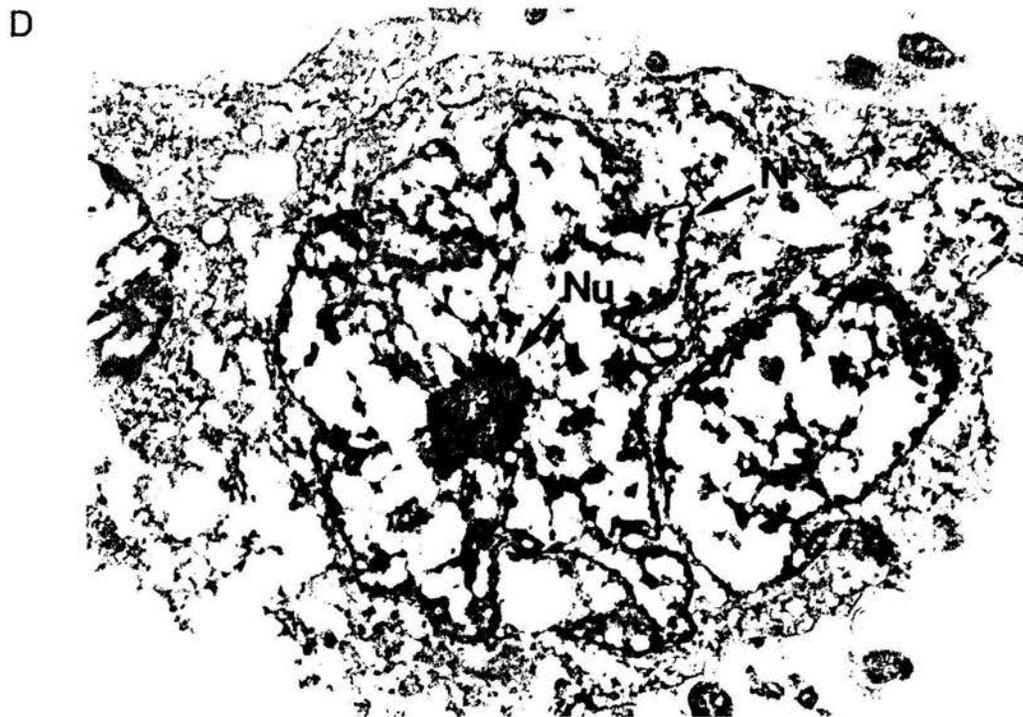
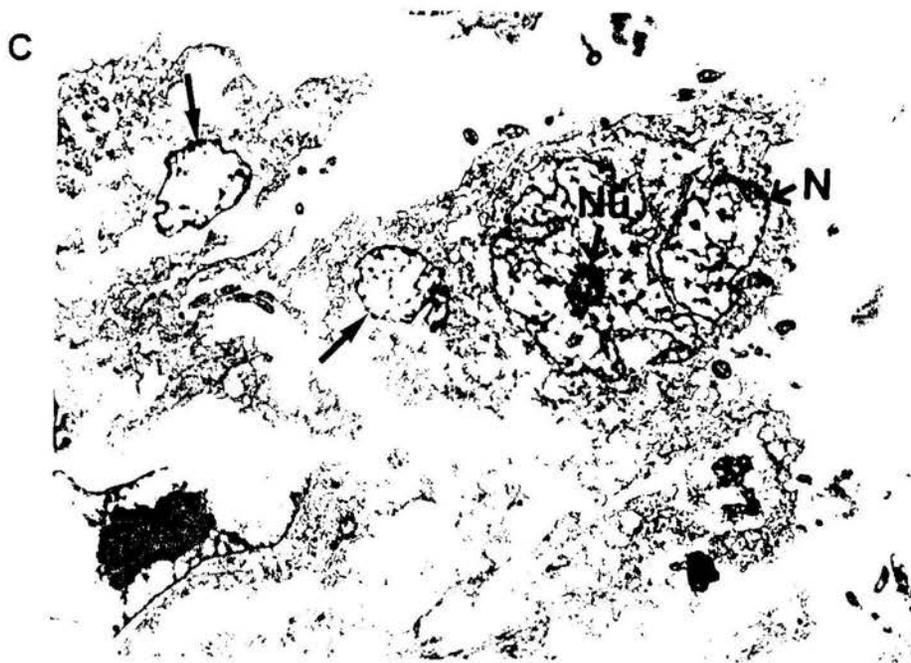


Figura 15 B.- *Fase III de la placentación: Células Binucleadas*. La fotografía muestra las Células Binucleadas (Cel Bi) y células uninucleadas (→) vistas a mayor aumento en el microscopio de luz (1080 X).



**Figuras 15 C y D: Fase III de la Placentación: Células Binucleadas.** La fotografía de la figura 15 C muestra esta misma región reprocesada y vista al microscopio electrónico (3500 X) y en la figura 15 D (9800 X) se observa esta misma zona en un aumento todavía mayor. Se observan los núcleos (**N**) y el nucleolo (**Nu**) de las células binucleadas y una célula uninucleada (→).



**Figura 15 E.- Fase III de la Placentación: Corioalantoides Liso y Membrana de la Cáscara.** En las regiones aledañas a las zona hipertrofiada el corioalantoides es liso y se observan trazas de la membrana de la cáscara (→)((1260 X).

F



G

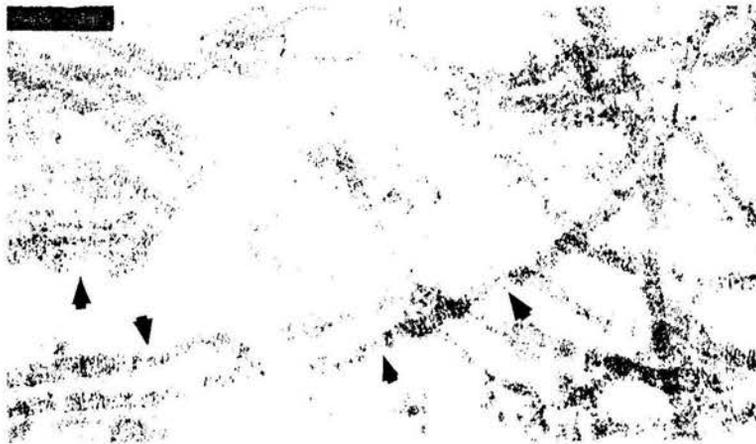
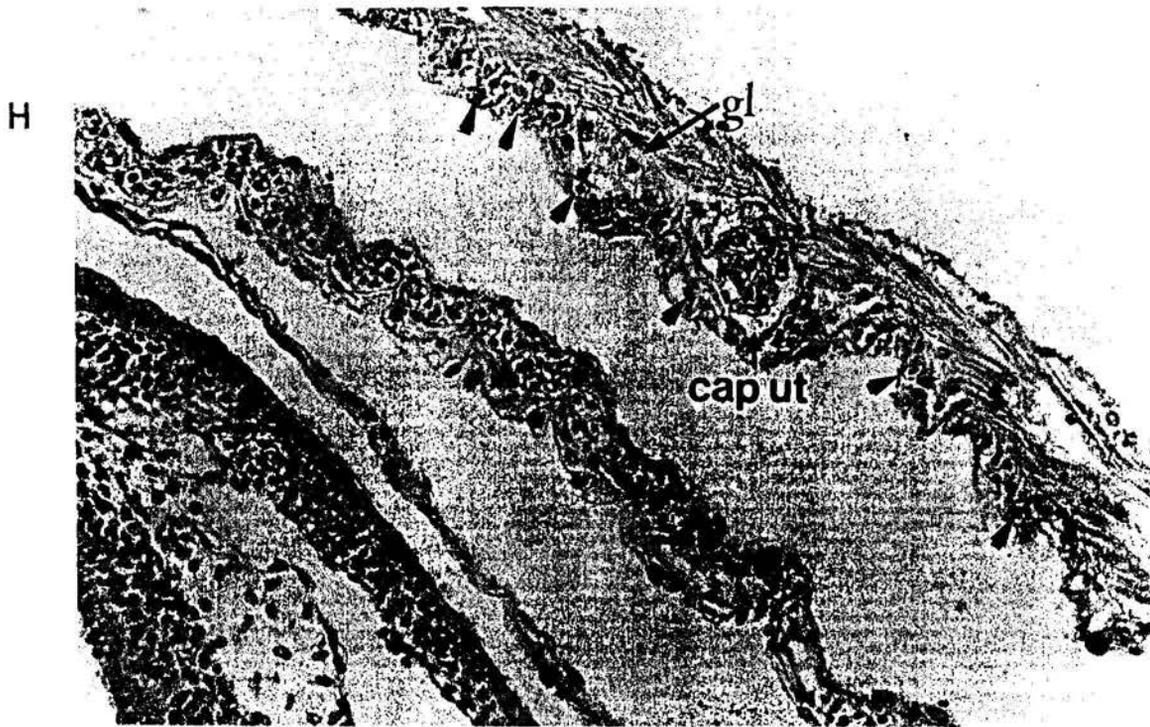


Figura 15 F y G.- *Fase III de la Placentación: Membrana de la Cáscara.* La observación al microscopio electrónico de la membrana de la cáscara en la región del corioalantoides liso demostró que tiene un arreglo irregular (Figura 15 F, 40 000 X) y vistas a mayor aumento (Figura 15 G, 120 000 X) se observa un bandeo transversal (>).



**Figura 15 H, I .- Fase III de la Placentación: Pared Uterina.** En yuxtaposición a la zona hipertrofiada la pared uterina presenta pliegues, en ellos se observan glándulas (gl) y vasos sanguíneos (cap ut) y entre las células epiteliales también hay pequeños capilares (►)(Figura 15 H, 125 X); en la figura 15 I (256 X) la abundancia de glándulas y pequeños capilares es mayor.

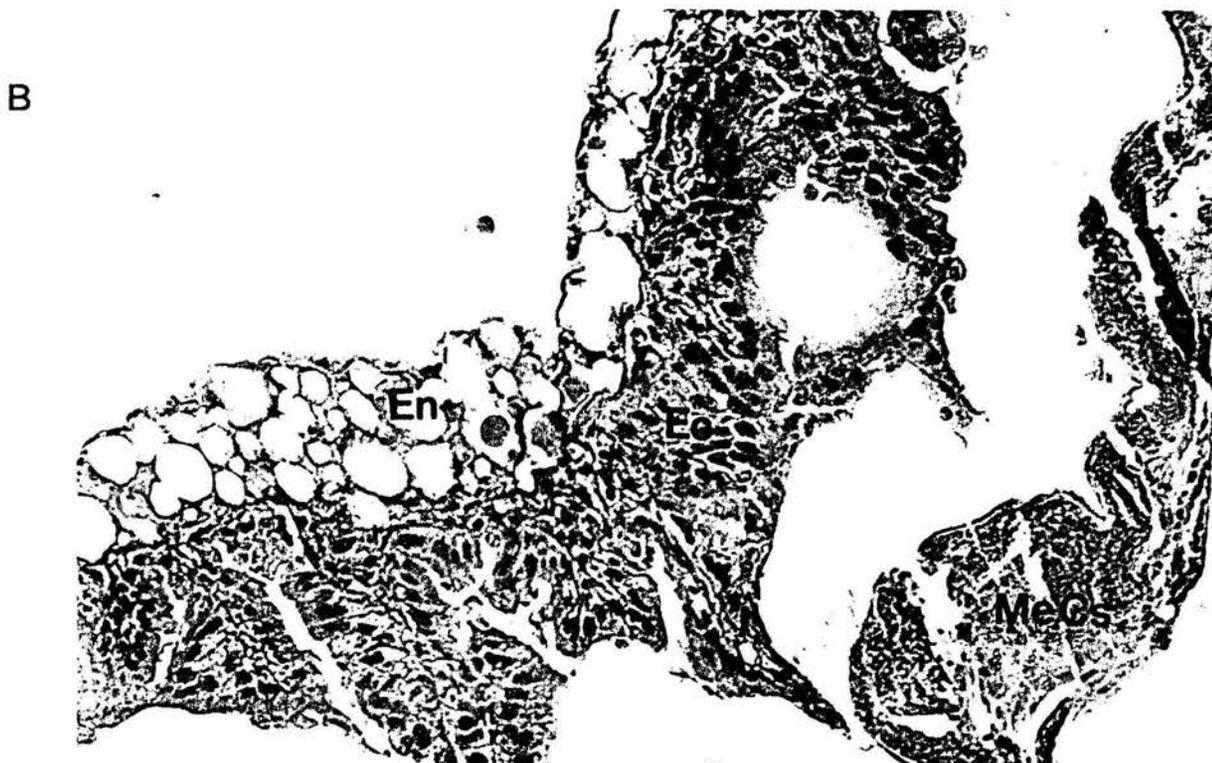
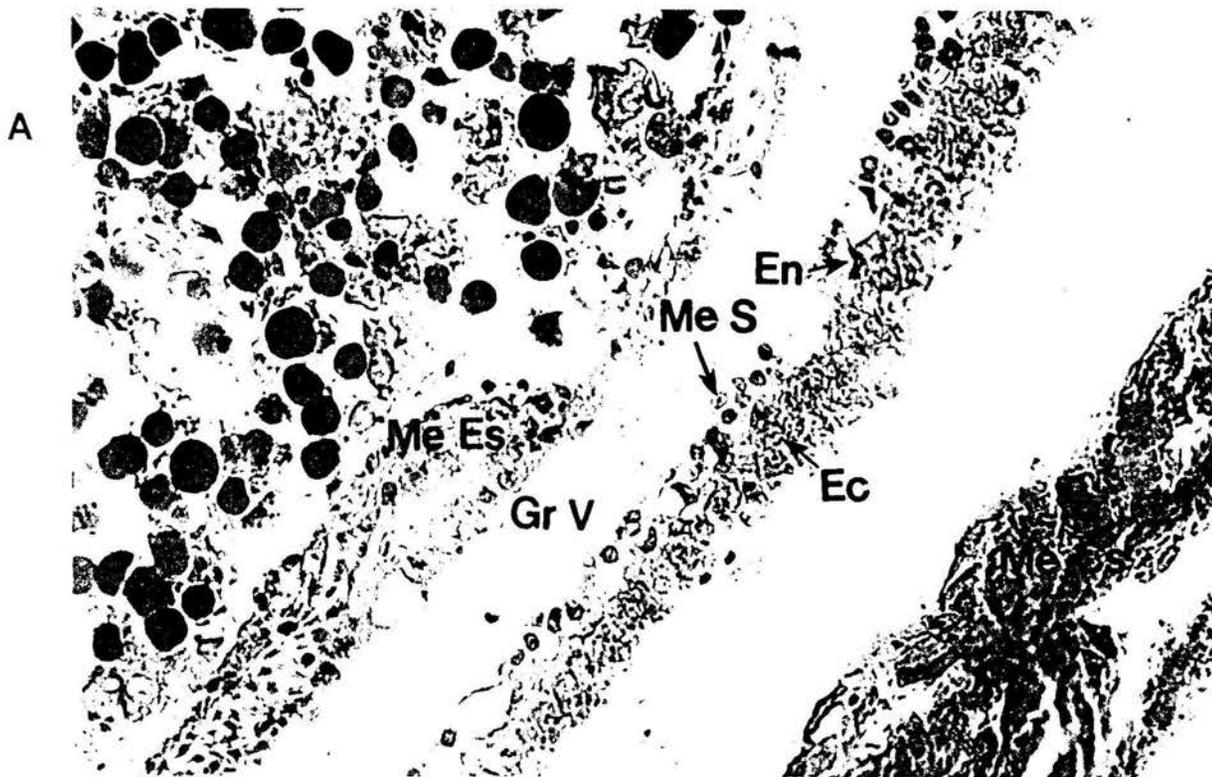


Figura 16 A, B.- *Fase III de la Placentación: La Onfaloplacenta.* En los estadios tardíos el Ectodermo Coriónico (Ec) de la onfaloplacenta es columnar (Figura 16 A; 256 X) y forma pliegues que se intercalan con la Membrana de la Cáscara (Me Cs)(Figura 16 B; 875X). Mesodermo Espláncnico (Me Es), Mesodermo Somático (Me S), Endodermo (En).



**Figura 17.- *Leucocitos Eosinófilos en la Membrana de la Cáscara.***  
En el último tercio de la gestación las capas que constituyen a la membrana de la cáscara se han disgregado por lo que ahora posee un aspecto sumamente laxo y es infiltrada por leucocitos eosinófilos (puntas de flecha) (200 X).



**Figura 18.- Residuos de los Anexos Embrionarios.** Las flechas señalan los residuos de las membranas extraembrionarias que abandonan las crías recién nacidas (3 X).

A



B



Figura 19 A, B .- *Corte Histológico de los Residuos de los Anexos Embrionarios.* En los cortes histológicos de los residuos que abandona el recién nacido se observa la presencia de pequeñas cantidades de vitelo (V) y la onfaloplacenta (Onf) (Figura 19 A, 78 X); también es posible observar restos de la membrana de la cáscara (Me Cs) y de la placenta corioalantoidea (PI CA) (Figura 19 B, 78 X).

## ***II Cuerpos lúteos.***

De acuerdo a las observaciones realizadas es posible señalar que los CLs se presentan histológicamente activos el primer tercio de la preñez (diciembre y enero), los primeros cambios regresivos se presentan al principio del segundo tercio de la gestación. A continuación se hace una descripción más detallada de acuerdo fundamentalmente a lo descrito para otras especies de reptiles y lo que particularmente se observó en B. i. imbricata.

### ***Desarrollo del Cuerpo lúteo:***

#### ***Diciembre.***

Los folículos postovulatorios obtenidos los primeros días de este mes se encuentran en los Fase I y II (figura 20). En la cavidad folicular que se formó después de la ovulación, se observan células sanguíneas y empieza a ser ocupada por las células de la granulosa que se están hipertrofiando y metamorfoseándose para formar la masa de células lúteas (mcl); no se observó ninguna figura mitótica. Particularmente los que se encuentran en la fase II, tienen una cavidad folicular que se ha reducido notoriamente, las células hipertrofiadas de la granulosa han ocupado una gran parte de esta cavidad. La teca interna forma una región que delimita a la mcl, la teca externa es gruesa y fibrosa; se presenta una gran vascularización en los límites de la teca interna y externa. Los CLs obtenidos la última semana de diciembre se encuentran fundamentalmente en la Fase III. La mayoría de estos CLs son estructuras compactas.

#### ***Enero***

A partir de este mes los CLs estudiados fueron obtenidos la tercera semana de cada mes.

Los CLs de este mes se caracterizan por la ausencia de la cavidad folicular (Fase III de desarrollo). Las células de la mcl tienen una organización cordonal (ver figura 21). Se distinguen perfectamente las tres zonas que conforman los CLs: la teca externa, que es la capa mas superficial, compuesta por tejido conectivo, fibroblastos y vasos sanguíneos; la teca interna es muy rica en células y al centro la mcl.



**Figura 20.- Fase II de Desarrollo del Cuerpo Lúteo.** En la fotografía se muestra un cuerpo lúteo de *Barisia i imbricata* obtenido en el mes de diciembre, que se caracteriza por la presencia , aún, de una cavidad (Cv) limitada por la masa de células lúteas (mcl) rodeada por la teca interna (T i) y la teca externa (T e) entre las cuales resalta la abundancia de capilares sanguíneos (puntas de flecha)( 125 X).



**Figura 21.- Fase III de Desarrollo del Cuerpo Lúteo.** Los cuerpos lúteos en la fase de desarrollo III se caracterizan por ser estructuras compactas, la masa de células lúteas (mcl) adquiere una organización cordonal, la teca interna (T i) y la teca externa (T e) se encuentran bien delimitadas, entre ellas se encuentran gran abundancia de capilares sanguíneos (→). Los cuerpos lúteos obtenidos en la última semana de diciembre y los del mes de enero se encuentran en esta fase de desarrollo (125 X).

## ***Degeneración del Cuerpo Lúteo.***

### ***Febrero.***

Los CLs de este mes presentan evidencias de que han iniciado su involución. En la periferia de la **mcl** se observan células con una gran vacuola que desplaza a núcleo hacia la periferia del citoplasma **mcl** (figura 22). También es posible observar el inicio de la infiltración de tejido conectivo a la **mcl**. A esta fase inicial de regresión se le ha denominado "Fase de involución I". Las tecas permanecen con la misma apariencia.

### ***Marzo***

El proceso degenerativo ha avanzado. Las células de la **mcl** tienen forma de anillo, la infiltración de tejido conectivo desde la teca interna hacia la **mcl** es masiva (figura 23 A). La apoptosis de las células de la **mcl** se ha iniciado; la presencia de núcleos picnóticos (**NP**) y núcleos fragmentados de cromatina condensada ( ) son muy evidentes en este mes (figura 23 B) así como la reducción de tamaño de los CLs. Estas características distinguen a los CLs en Fase de involución II

### ***Abril***

El 90 % de los CLs se encuentran en la fase de involución II, el resto (10 %) han progresado en su atrofia y es posible observar grandes cavidades en la **mcl** fundamentalmente en la parte central. A los CLs con esta última característica se les ha ubicado en la Fase de involución IIIa ( figura 24).

### ***Mayo***

En 2 hembras los CLs se encuentran en la Fase de involución IIIa (figura 24) mientras que 4 de ellas poseen CLs con infiltración masiva de eosinófilos fundamentalmente en la **mcl** pero carecen de cavidades, a este tipo de CL se le ubicó en la Fase IIIb de involución ( foto 25).

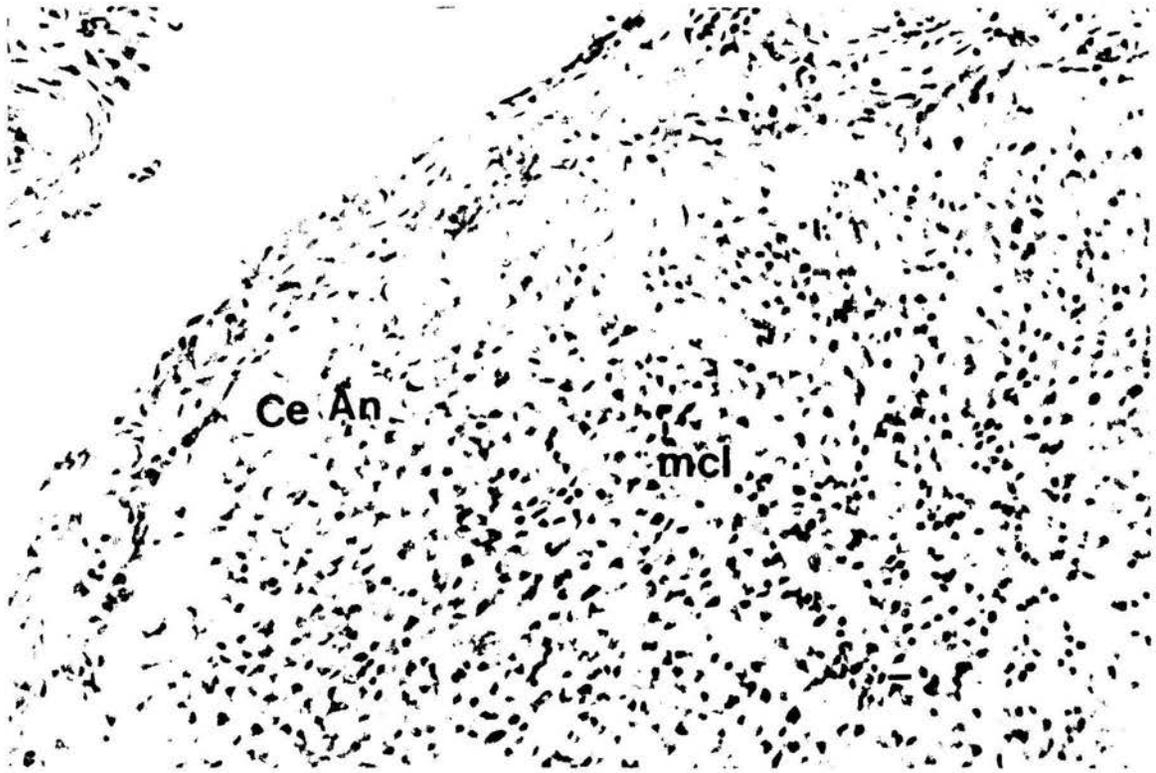
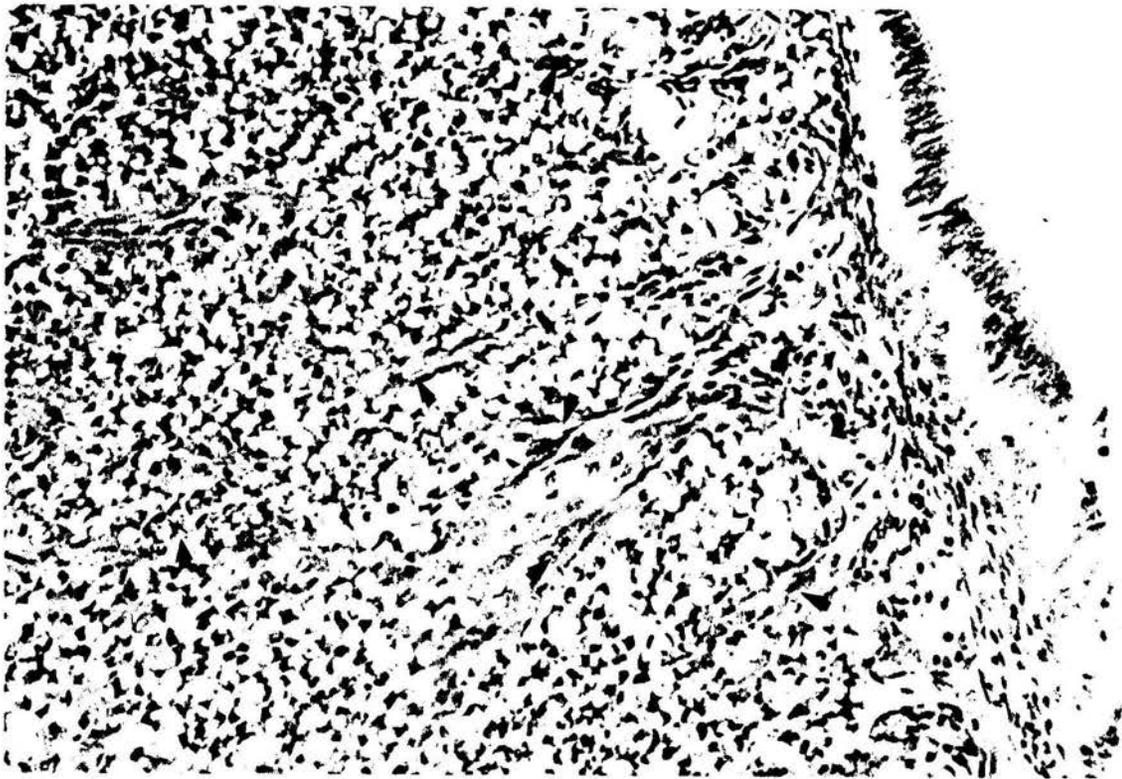
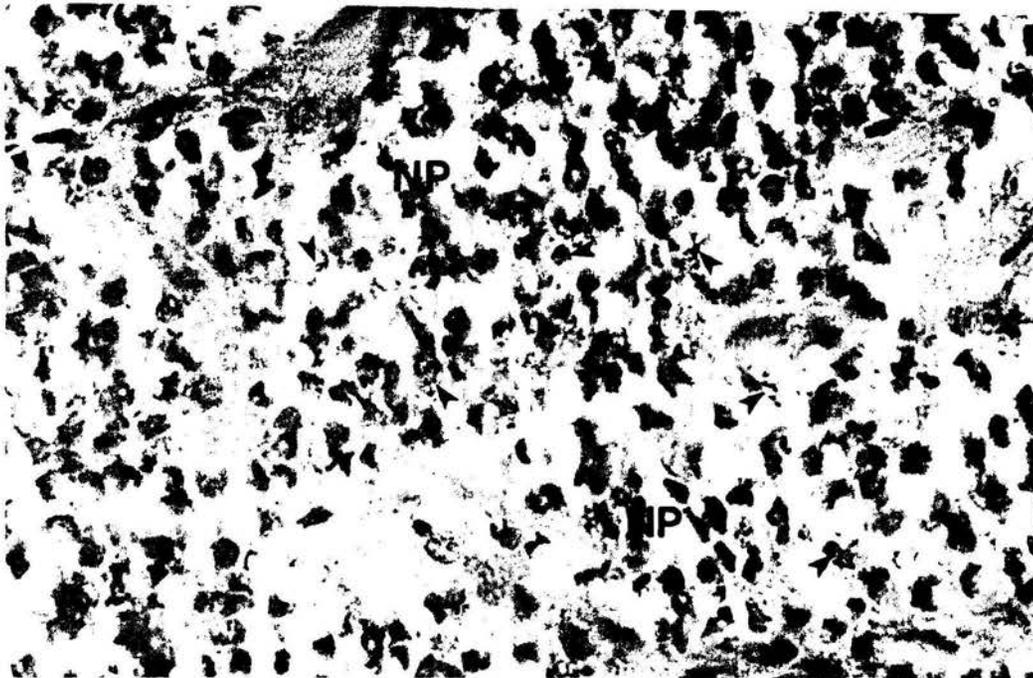


Figura 22.- *Fase I de Involución del Cuerpo Lúteo*. El inicio de la involución de los cuerpos lúteos se caracteriza porque en la periferia de la masa de células lúteas (mcl) se presentan “células en anillo” (Ce An) (200X).

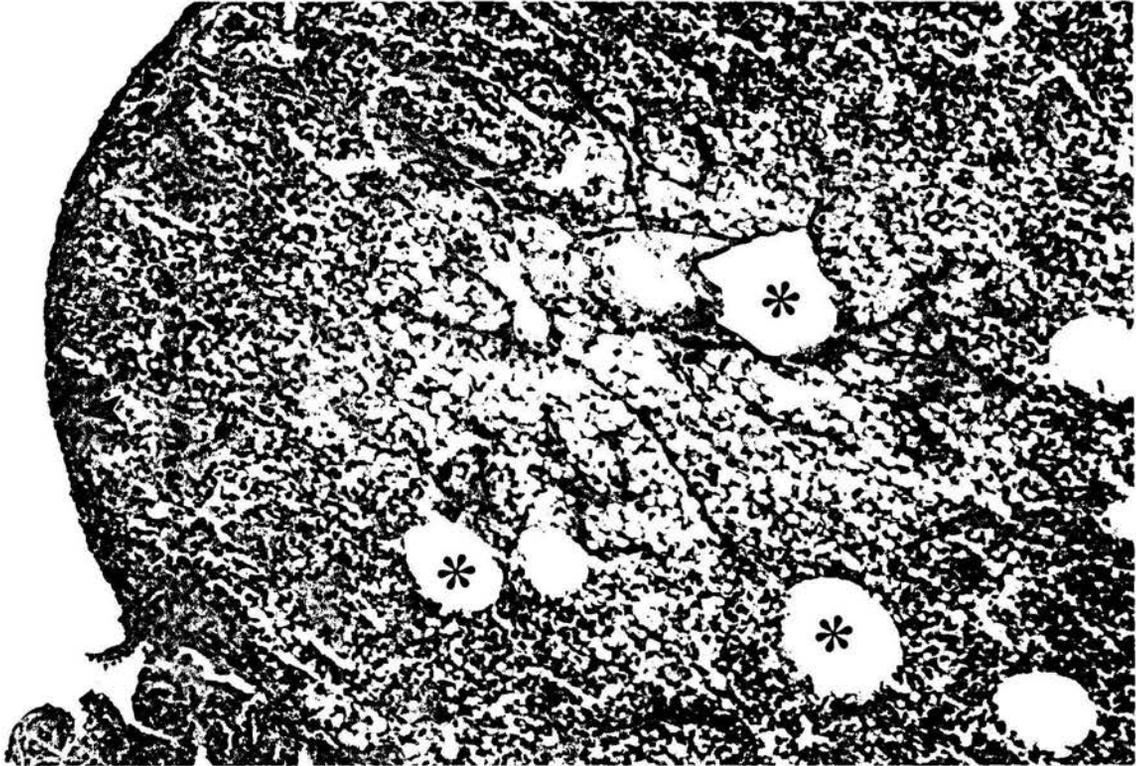
A



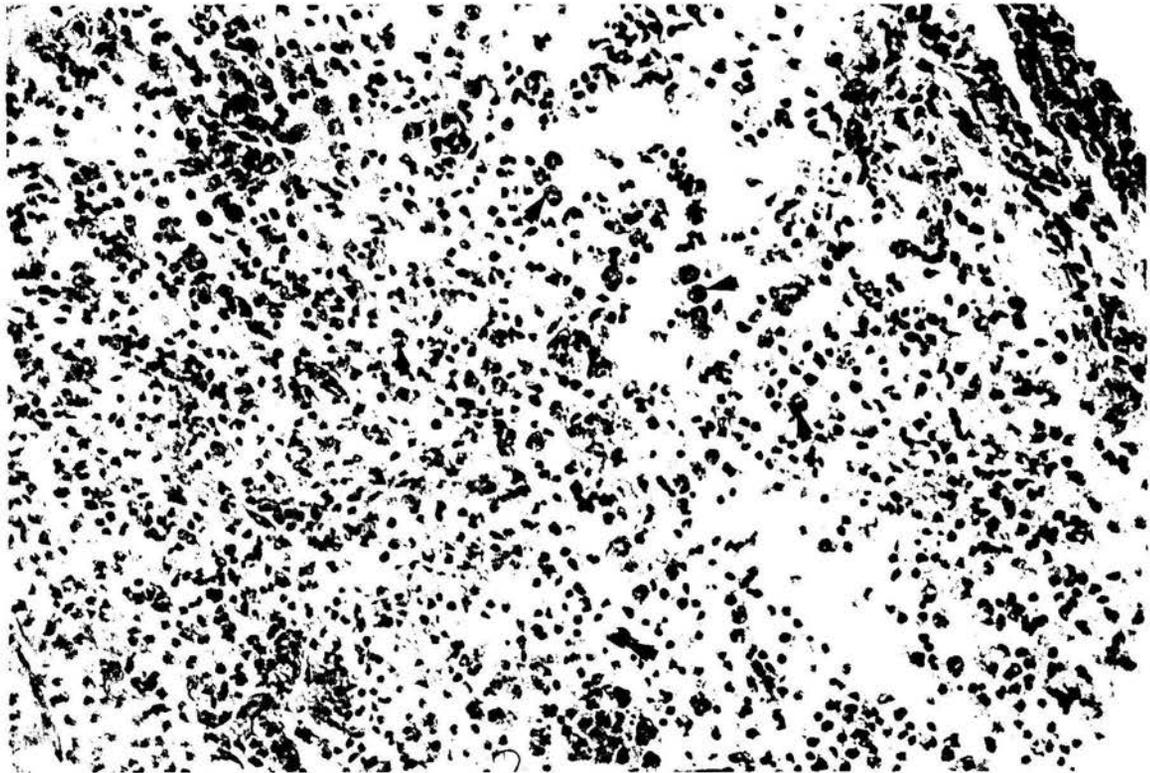
B



**Figura 23.- Fase de Involución II del Cuerpo Lúteo.** En A se observa la infiltración masiva de tejido conectivo (puntas de flecha) (200 X) y en B la presencia (NP) de núcleos picnóticos y núcleos fragmentados (➤) en la masa de células lúteas son característicos de esta fase y se observan en los cuerpos lúteos del mes de marzo (400 X).



**Figura 24.- Fase IIIa de Involución del Cuerpo Lúteo.** Se caracterizan por la presencia de cavidades (\*) en la masa de células lúteas. El límite entre la teca externa y la interna se ha perdido, por lo que ahora se observa una sola teca (puntas de flecha) (125 X).



**Figura 25.- Fase IIIb de Involución del Cuerpo Lúteo.** En los cuerpos lúteos del mes de mayo se observa una gran infiltración de leucocitos eosinófilos (puntas de flecha) en la masa de células lúteas pero no presentan cavidades (200 X).

### ***III Efecto de la lutectomía y de la extirpación de los folículos atrésicos al inicio de la preñez sobre el mantenimiento de la gestación.***

En ninguno de los tres grupos de trabajo se detectó la expulsión de críos durante el tiempo de observación (30 días) en el cual las hembras preñadas fueron mantenidas en cautiverio (tabla II). Una vez concluido este período todos los animales utilizados fueron disectados. Se observó que los ovarios de las hembras sometidas a la extirpación de cuerpos lúteos y folículos atrésicos vitelogénicos estaban carentes de estas estructuras; el análisis de varianza ponderada de un factor demostró que no hay diferencias estadísticamente significativas en la cantidad de cuerpos lúteos así como en el número de embriones *in utero* entre los tres grupos de trabajo (tabla III y IV). por lo que la lutectomía en conjunto con la extirpación de los folículos atrésicos no promueven el aborto en el primer mes de la preñez,.

#### INICIO DE LA PREÑEZ

**Tabla II.- Efecto de la lutectomía y la extirpación de los folículos atrésicos, al inicio de la preñez, sobre el mantenimiento de la gestación.**

| TRATAMIENTO                            | <i>Número de cuerpos lúteos</i> | <i>Número de productos expulsados</i> | <i>Número de productos in útero</i> |
|--|---------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|
| Lutectomía <sup>♣</sup><br>N = 9       | 131<br>X=14.5 ± 1.1             | 0                                     | 127<br>X = 14.11 ± 1.3              |
| Laparotomía <sup>♠</sup><br>N = 9      | 117<br>X = 13.0 ± 2.6           | 0                                     | 112<br>X = 12.44 ±2.6               |
| Control intacto <sup>♣</sup><br>N = 10 | 136<br>X = 13.6 ± 4.2           | 0                                     | 133<br>X = 13.3 ±4.6                |

♣ Peso: 32.4 ± 4.8 g, Longitud H-C: 11.8 ± 1.5 cm

♠ Peso: 28.5 ± 4.6 g, Longitud H-C: 11.8 ± 0.8 cm

♣ Peso: 32.8 ± 9.6 g, Longitud H-C: 11.5 ± 1.2 cm

**Tabla III.- Tabla de ANOVA Ponderada de un Factor: Cuerpos Lúteos (Inicio de la Preñez).**

| FUENTE DE VARIACION | SUMA DE CUADRADOS | GRADOS DE LIBERTAD | CUADRADO MEDIO | F EXPERIMENTAL | F DE TABLAS (P=0.05) |
|---------------------|-------------------|--------------------|----------------|----------------|----------------------|
| TRATAMIENTOS        | 11.092            | 2                  | 5.546          | 0.612          | 3.39                 |
| ERROR               | 226.622           | 25                 | 9.065          |                |                      |
| TOTAL               | 237.714           | 27                 |                |                |                      |

**Tabla IV.- Tabla de ANOVA Ponderada de un Factor: Embriones (Inicio de la Preñez).**

| FUENTE DE VARIACION | SUMA DE CUADRADOS | GRADOS DE LIBERTAD | CUADRADO MEDIO | F EXPERIMENTAL | F DE TABLAS (P=0.05) |
|---------------------|-------------------|--------------------|----------------|----------------|----------------------|
| TRATAMIENTOS        | 12.503            | 2                  | 6.252          | 0.585          | 3.39                 |
| ERROR               | 267.11            | 25                 | 10.686         |                |                      |
| TOTAL               | 279.714           | 27                 |                |                |                      |

***b) Efecto de la lutectomía en la preñez temprana sobre el mantenimiento de la Preñez. (lote II).***

Durante la fase de observación (desde el inicio del segundo mes de la gestación -primeros días de enero- hasta el nacimiento de las crías) no se registró incidencia de aborto en ninguno de los grupos de trabajo; sin embargo todos los animales sometidos a lutectomía presentaron parto anormal (tabla V). En las 11 hembras de este grupo el parto fue prematuro y se presentó a partir de la última semana de abril. En los terrarios se detectó la presencia de crías prematuras expulsadas en el estadio 40 de desarrollo (figura 26); además, en estas mismas hembras, su parto fue disociado y en cinco de ellas el parto también fue retardado (tabla VI). De las 10 hembras sometidas a laparatomía sólo dos presentaron parto anormal (tabla V), el cual fue disociado y retardado (tabla VI) y las ocho restantes presentaron parto normal (tabla V). En el caso de las hembras control sólo una de ellas presentó parto anormal (retardado) el resto de las hembras de este grupo presentaron parto normal (tabla V y VI).

La expulsión de neonatos prematuras (figura 26) sólo se presentó en las hembras sometidas a lutectomía (tabla VII); la ANOVA ponderada demostró que en este mismo grupo de hembras hay una reducción significativa en el número de recién nacidos normales vivas (tabla VIII) así como un incremento significativo en la expulsión de crías normales muertas (IX); por lo que se asume que hay una estrecha relación entre la lutectomía y la disminución en el número de crías normales vivas debido a la incidencia tanto en el nacimiento de neonatos prematuros como de crías normales muertas (tabla VII). No se encontró diferencia significativa en la expulsión de huevos infértiles (tabla X).



**Figura 26.- Crías prematuras de Barisia i. imbricata (→)**

## PREÑEZ TEMPRANA

**Tabla V.- Efecto de la lutectomía, en la preñez temprana, sobre el mantenimiento de la gestación y el parto.**

| TRATAMIENTO                | EFECTO |               |              |
|----------------------------|--------|---------------|--------------|
|                            | Aborto | Parto Anormal | Parto Normal |
| Lutectomía♣<br>N = 11      | 0      | 11            | 0            |
| Laparotomía♠<br>N = 10     | 0      | 2             | 8            |
| Control intacto♦<br>N = 11 | 0      | 1             | 10           |

♣ Peso:  $32.2 \pm 6.0$  g, Longitud H-C:  $12.0 \pm 1.0$  cm

♠ Peso:  $34.8 \pm 5.8$  g, Longitud H-C:  $11.7 \pm 0.7$  cm

♦ Peso:  $29.5 \pm 6.2$  g, Longitud H-C:  $11.5 \pm 1.5$  cm

**Tabla VI.- Anormalidades en el parto.**

El número dentro del paréntesis señala la cantidad de hembras que presentaron esta anomalía.

| TRATAMIENTO                | PARTO ANORMAL |           |           |
|----------------------------|---------------|-----------|-----------|
|                            | Prematuro     | Disociado | Retardado |
| Lutectomía*<br>N = 11      | + (11*)       | + (11*)   | + (6*)    |
| Laparotomía*<br>N = 10     | -             | + (2)     | + (2)     |
| Control intacto*<br>N = 11 | -             | -         | + (1)     |

\* Es necesario señalar que todas hembras sometidas a lutectomía presentaron tanto parto prematuro como parto disociado y de esas once hembras seis presentaron parto retardado, por lo que en cada celda se anota el número correspondiente.

**Tabla VII.- Efecto de la lutectomía en la preñez temprana sobre la frecuencia y el tipo de crías expulsadas así como huevos infértiles.**

| TRATAMIENTO                | EFECTOS             |                       |                        |                      |
|----------------------------|---------------------|-----------------------|------------------------|----------------------|
|                            | Crías prematuras    | Crías normales vivas  | Crías normales muertas | Huevos infértiles    |
| Lutectomía*<br>N = 11      | 34<br>X = 3.1 ± 1.7 | 39<br>X = 3.5 ± 2.7   | 9<br>X = 0.81 ± 0.87   | 13<br>X = 1.2 ± 1.4  |
| Laparotomía*<br>N = 10     | 0                   | 97<br>X = 9.7 ± 3.0   | 3<br>X = 0.3 ± 0.48    | 5<br>X = 0.5 ± 1.2   |
| Control intacto*<br>N = 11 | 0                   | 129<br>X = 12.9 ± 3.5 | 1<br>X = 0.09 ± 0.03   | 1<br>X = 0.09 ± 0.03 |

**Tabla VIII.- Tabla de ANOVA Ponderada de un Factor:  
Crías Normales Vivas.**

| FUENTE DE VARIACION | SUMA DE CUADRADOS | GRADOS DE LIBERTAD | CUADRADO MEDIO | F EXPERIMENTAL | F DE TABLAS (P=0.05) |
|---------------------|-------------------|--------------------|----------------|----------------|----------------------|
| TRATAMIENTOS        | 497.139           | 2                  | 248.569        | 25.769         | 3.33                 |
| ERROR               | 279.736           | 29                 | 9.646          |                |                      |
| TOTAL               | 776.875           | 31                 |                |                |                      |

**Tabla IX Tabla de ANOVA Ponderada de un Factor:  
Crías Normales Muertas.**

| FUENTE DE VARIACION | SUMA DE CUADRADOS | GRADOS DE LIBERTAD | CUADRADO MEDIO | F EXPERIMENTAL | F DE TABLAS (P=0.05) |
|---------------------|-------------------|--------------------|----------------|----------------|----------------------|
| TRATAMIENTOS        | 3.073             | 2                  | 1.537          | 4.186          | 3.33                 |
| ERROR               | 10.645            | 29                 | 0.367          |                |                      |
| TOTAL               | 13.719            | 31                 |                |                |                      |

**Tabla X Tabla de ANOVA Ponderada de un Factor:  
Huevos Infértiles.**

| FUENTE DE VARIACION | SUMA DE CUADRADOS | GRADOS DE LIBERTAD | CUADRADO MEDIO | F EXPERIMENTAL | F DE TABLAS (P=0.05) |
|---------------------|-------------------|--------------------|----------------|----------------|----------------------|
| TRATAMIENTOS        | 6.673             | 2                  | 3.337          | 2.7616         | 3.33                 |
| ERROR               | 35.045            | 29                 | 1.208          |                |                      |
| TOTAL               | 41.719            | 31                 |                |                |                      |

*Efecto de la lutectomía en la preñez temprana  
sobre el tamaño de la camada.*

Las hembras sometidas a lutectomía presentaron disminución en el total de críos expulsados (tabla XI), el Análisis de Varianza Ponderado de un Factor así como la Prueba de Fisher demostraron que esta disminución en el tamaño de la camada en las hembras lutectomizadas es estadísticamente significativo en relación a las hembras del control intacto (tabla XII).

**PREÑEZ TEMPRANA**  
**Tabla XI.- Número de Cuerpos Lúteos  
y Críos.**

| TRATAMIENTO               | Número de cuerpos lúteos | Total de productos expulsados |
|---------------------------|--------------------------|-------------------------------|
| Lutectomía<br>N = 11      | 157<br>14.3 ± 4.0        | 95<br>8.6 ± 2.4               |
| Laparotomía<br>N = 10     | 115<br>11.5 ± 3.2        | 105<br>10.5 ± 2.5             |
| Control Intacto<br>N = 11 | 143<br>13.0 ± 3.0        | 131<br>11.9 ± 2.7             |

**Tabla XII.- Tabla de ANOVA Ponderada de un Factor:  
Tamaño de la Camada.**

| FUENTE DE VARIACION | SUMA DE CUADRADOS | GRADOS DE LIBERTAD | CUADRADO S MEDIOS | F EXPERIMENTAL | F DE TABLAS (P = 0.05) |
|---------------------|-------------------|--------------------|-------------------|----------------|------------------------|
| TRATAMIENTOS        | 59.264            | 2                  | 29.632            | 4.572          | 3.33                   |
| ERROR               | 187.955           | 29                 | 6.481             |                |                        |
| TOTAL               | 247.219           | 31                 |                   |                |                        |

#### ***IV. Efecto de la lutectomía sobre los niveles plasmáticos de progesterona.***

Los datos obtenidos por radioinmunoanálisis de las concentraciones plasmáticas de progesterona antes y después de la lutectomía (ver tabla XIII) fueron comparados mediante la prueba de T pareada (Daniel, 1977). Los valores calculados de T para cada uno de los meses (Diciembre: 1.38; Enero: 0.4698; Febrero: 1.11) con un nivel de significancia de  $P = 0.025$  para una prueba de dos colas demostraron que no hay diferencia estadísticamente significativa, es decir la lutectomía no tiene un efecto importante sobre los niveles plasmáticos de progesterona a ocho días de haberla practicado.

**Tabla XIII.- Efecto de la lutectomía sobre los niveles plasmáticos de progesterona.**

| MESES               | [P <sub>4</sub> ] ANTES DE LA LUTECTOMÍA (ng/ml) | [P <sub>4</sub> ] 8 DÍAS DESPUÉS DE LA LUTECTOMÍA (ng/ml) | VALOR DE t experimental | t DE TABLAS (p=0.025) |
|---------------------|--|---|-------------------------|-----------------------|
| Diciembre*<br>N = 5 | 0.33 ± 0.03                                      | 0.28 ± 0.07   | 1.38                    | 2.776                 |
| Enero*<br>N = 5     | 2.52 ± 0.4                                       | 2.81 ± 1.06   | 0.4698                  | 2.776                 |
| Febrero*<br>N = 5   | 1.90 ± 1.43                                      | 1.79 ± 1.8  | 1.11                    | 2.776                 |

♣ Peso: 30.7 ± 7.7 g, Longitud H-C: 11.6 ± 1.5 cm.

♠ Peso: 27.9 ± 4.4 g, Longitud H-C: 11.1 ± 0.5 cm.

♦ Peso: 27.3 ± 4.8 g, Longitud H-C: 11.0 ± 0.9 cm

# DISCUSIÓN

La aparición de los anexos embrionarios (corión, amnios, alantoides y saco vitelino) les permitió a los reptiles una gran versatilidad en las estrategias reproductoras y en consecuencia grandes posibilidades de evolucionar y ocupar medios ambientes que sus ancestros, los anfibios, no habían utilizado con éxito. Es necesario señalar que la evolución ante todo es un proceso oportunístico que usualmente explota estructuras que ya se encuentran y modifica funciones preexistentes y el proceso reproductivo no es la excepción.

## *Placentación.*

Es comúnmente conocido que las membranas extraembrionarias están presentes en las especies ovíparas y vivíparas de los vertebrados superiores y que son indispensables para que el desarrollo embrionario se lleve a cabo. En las especies vivíparas, las membranas extraembrionarias adquieren una importancia relevante ya que participan en la formación de estructuras que permiten establecer comunicación directa con la madre para obtener tanto las condiciones como los elementos necesarios para su desarrollo (de acuerdo al grado de matrotrofia que hayan alcanzado). Estas estructuras se denominan comúnmente como placenta. En los reptiles se han descrito cuatro morfotipos fundamentales de acuerdo a los tejidos que participan en su formación. En el caso de *B. j. imbricata* se presentan tres morfotipos de placentas a lo largo del desarrollo embrionario. La presencia de una onfalopleura trilaminar en contacto con la pared uterina (placenta coriovitelina, de acuerdo a Stewart y Blackburn, 1988) se detecta en el desarrollo temprano de esta lagartija. Esta onfalopleura ha sido descrita en pocas especies, muy probablemente porque al igual que en *B. j. imbricata* es substituida rápidamente por el celoma extraembrionario. Diversos autores (Boyd, 1942; Cate-Hoedemaker, 1933; Kasturirangan, 1952) han propuesto que esta onfalopleura cumple funciones importantes como el transporte de agua e intercambio de gases. Se ha demostrado que durante la preñez la tasa metabólica y el consumo de oxígeno es mas alto que en hembras no reproductivas (Bauchot y Vleck, 1990; Birchard y col., 1984). Esta elevación de la tasa metabólica refleja la demanda de oxígeno no sólo de la hembra gestante, sino también de los embriones en

desarrollo. Un requisito indispensable para el desarrollo intrauterino es el intercambio gaseoso (Packard y col., 1977) y ya que el oxígeno es un nutriente que no puede ser almacenado en el huevo (Ingermann, 1992) es necesario que tanto la hembra gestante como el embrión creen condiciones para permitir este intercambio gaseoso durante todo el desarrollo embrionario. Una preadaptación muy importante la representa la mayor afinidad que tiene la sangre fetal por el oxígeno con respecto a la que tiene la sangre materna por este elemento (Ingermann, 1992). Se ha demostrado que en diversas especies de reptiles vivíparos como Sphenomorphus quoyi (Grigg y Harlow, 1981) Agkistrodon piscivorus, (Birchard y col., 1984) y T. elegans (Berner e Ingermann, 1988) los eritrocitos fetales tienen una mayor afinidad por el oxígeno que los eritrocitos de la hembra gestante, por lo que la placenta coriovitelina pudiera ser el sitio inicial de un intercambio gaseoso, ya que es el primer lugar donde ocurre la presencia de vasos sanguíneos y la cercanía tan estrecha con la pared uterina a pesar de ser sustituida tan rápidamente.

Poco después de que la placenta coriovitelina ha sido sustituida por el celoma extraembrionario, en el polo abembrionario se forma la onfaloplacenta, la cual es una característica distintiva de los escamosos (Hoffman, 1970; Stewart, 1992). De acuerdo a las características histológicas de la onfaloplacenta de B. i. imbricata y a la semejanza que guarda con la descrita para T. sirtalis y Elgeria coerulea (Hoffman, 1970 y Stewart, 1985; respectivamente) es posible que cumpla funciones histiotróficas como ha sido señalado por otros autores (Bauchot, 1965, Stewart, 1993) para otras especies de escamosos (T. sirtalis, Hoffman, 1970; Enhydryna schistosa, Kasturiangan 1951b; Enhydria dussumieri, Parameswaran, 1962). Los trabajos encaminados a obtener información acerca del transporte placentario en escamosos son escasos y se han basado fundamentalmente en dos métodos: a) la comparación de la composición de los huevos oviductales con respecto a los neonatos en relación a iones inorgánicos, peso húmedo y peso seco (Stewart, 1992; Thompson, 1972, 1987; Stewart y col, 1993) y b) en la incorporación, por parte del embrión, de radioisótopos introducidos por diversas vías a la hembra gestante (Lacerta vivipara, Panigel, 1956; Natrix, Canaway y Fleming, 1960; T. sirtalis, Hoffman, 1970). Los resultados de estos trabajos han demostrado que la absorción de agua del útero es un fenómeno constante en todos los escamosos vivíparos estudiados (Stewart, 1992) y esta contribuye substancialmente al contenido de agua del neonato. En cuanto al transporte de iones Hoffman (1970) demuestra que el  $^{131}\text{I}$ ,  $^{22}\text{Na}$ ,  $^{59}\text{Fe}$ ,  $^{32}\text{P}$  y la glicina marcada con carbono 14 pasan de la madre al feto y sugiere que se lleva a

cabo a través de la onfaloplacenta, mientras que Conaway y Fleming (1960) y Panigel (1956) responsabilizan a la alantoplacenta. Es posible que la onfaloplacenta de B. i. imbricata pudiera transportar iones inorgánicos dadas las características histológicas y la similitud que guarda con la de T. sirtalis; además también pudiera ser la responsable del transporte de agua ya que este tipo de placenta, una vez formada, permanece durante todo el desarrollo embrionario; y a que la captación de agua puede facilitar la licuefacción del vitelo (Parameswaran, 1962; Villagrán, 1989; Weekes, 1935; Blackburn y col. 1984) para ser utilizado por el embrión en la fase de crecimiento rápido que se observó a partir del segundo tercio de la gestación (febrero) el cual coincide con la formación de la onfaloplacenta.

De acuerdo a las características del corioalantoides y al plegamiento del endometrio es la complejidad de la alantoplacenta y refleja; además, el índice de participación que tiene en el desarrollo embrionario. La alantoplacenta tipo I y II es característica de especies con huevos telolécitos (T. elegans, Hoffman, 1975; S. mucronatus, S. gramicus Villagrán 1989), su colaboración en el transporte de nutrientes no es muy amplia (Blackburn, 1993); en cambio en las especies con huevos oligolécitos o microlécitos (C. chalcides, Mabuya heathy) la alantoplacenta es más compleja (tipos III y IV) y su participación en la nutrición embrionaria es trascendente, e incluso podría tener otras funciones relevantes para hacer posible el desarrollo intrauterino (por ejemplo producción de hormonas, regulación de la respuesta inmune).

La alantoplacenta de B. i. imbricata presenta ciertas semejanzas a la de C. chalcides, Mabuya y Pseudomia (L.) entrecasteauxii. En los estadios tempranos de B. i. imbricata la alantoplacenta es sencilla, del tipo I, pero en los embriones avanzados (estadios 38 y 39 de acuerdo a Dufaure y Hubert, 1961) presenta modificaciones importantes: en la región mesometrial el corioalantoides se hipertrofia y el endometrio presenta pliegues; hacia las porciones laterales el corioalantoides es liso al igual que el endometrio. Una situación similar se observa en los sincidos arriba señalados. El análisis al microscopio de luz del placentoma de C. chalcides, P. entrecasteauxii, de Mabuya (Blackburn, 1993a, 1993b) y de la región hipertrofiada de B. i. imbricata detectó la presencia de células binucleadas; estas características fueron confirmadas en B. i. imbricata al microscopio electrónico. En cuanto a las características de las células binucleadas, la distribución es similar a la descrita para P. entrecasteauxii y C. chalcides es decir se encuentran en el

borde externo del placentoma, están dispersas entre las células ectodérmicas uninucleadas y son más grandes que estas. De acuerdo al análisis del trabajo de Weekes (1930) y de los datos recientemente presentados por Blackburn (1993a, 1993b) considero que existen los elementos necesarios para pensar que la región hipertrofiada y la porción lisa de la alantoplacenta de B. i. imbricata podrían representar el “placentoma primitivo” y el “paraplacentoma” respectivamente y las células binucleadas ser análogas a los diplocariocitos de C. chalcides y de M. heathi e inclusive tener alguna relación de convergencia filogenética con los diplocariocitos de los rumiantes. Extrañamente ninguna discusión acerca de las implicaciones evolutivas de la presencia de los placentomas y de los diplocariocitos encontrados en C. chalcides, M. bistrata y M. mabouya ha sido hecha recientemente. Giacomini (1906) sugirió que la alantoplacenta de C. chalcides puede ser el equivalente de un simple cotiledón de la placenta sindesmocorial de los rumiantes, sin embargo, Ghiara y colaboradores (1987) descartaron esta posibilidad, argumentando que de acuerdo a sus observaciones no hay proceso invasivo como en tales especies. En el trofoblasto de la placenta corioalantoidea de los mamíferos existen tres configuraciones citológicas indicativas de la función que desempeñan: el citotrofoblasto, el sincitiotrofoblasto y una tercera forma que no es muy común observarla: las células gigantes del trofoblasto, esta incluye a las células gigantes mononucleadas, presentes en roedores y lagomorfos, y las células trofoblásticas binucleadas, características de los rumiantes y equinos (Hoffman y Wooding, 1993; Blackburn y col., 1989). En tres principales categorías se pueden agrupar las funciones del trofoblasto de los mamíferos: nutritiva, invasiva y reguladora. El papel nutritivo es inherente a todo el trofoblasto y puede considerarse como la característica fisiológica más primitiva (Wimsatt, 1960). Las propiedades invasivas del trofoblasto de los rumiantes dependen de los diplocariocitos (Pijnenborg, 1985), las cuales dan origen al sincitiotrofoblasto en aquellas especies de rumiantes que lo presentan (p.e. ovejas, Wimsatt, 1962; Hoffman y Wooding, 1993). También se ha demostrado que la producción de lactógeno placentario en los rumiantes y la producción de la gonadotropina coriónica en los equinos esta a cargo también de las células binucleadas (Hoffman y Wooding, 1993). En cambio en el humano el sincitiotrofoblasto sintetiza la gonadotropina coriónica así como la mayor parte de las hormonas esteroideas (progesterona y estrógenos) (Solomon, 1994; Ogren y Talamantes, 1994). De acuerdo a estas consideraciones en los mamíferos y a que la desintegración de la membrana de la cáscara coincide con la presencia del “placentoma primitivo” sería posible proponer que : a) las células binucleadas poseen un carácter

fagocítico, que en muchos reptiles placentarios serviría, inicialmente, para degradar la membrana de la cáscara, b) que “ el “placentoma primitivo” puede estar involucrado, en B. i. imbricata, en cubrir funciones de comunicación feto-madre, o viceversa, más allá del transporte de agua e intercambio de gases; ya que la desintegración de esta membrana refleja la necesidad de una comunicación más estrecha y directa entre el crío y la madre y c) una vez que el trofoblasto reptileano evolucionó, optimizó las funciones ya realizadas (captación de agua, oxígeno y otros nutrientes y desalojo de desechos metabólicos) y adquirió funciones aún más complejas como las que se han descrito en los mamíferos (p.e. capacidad invasiva y funciones regulatorias) (Porter y col., 1982). De hecho el carácter decidua de la alantoplacenta de C. chalcides implican sus propiedades invasivas y en S. jarrovi Guillette (1981b) ha especulado que podría desarrollar funciones esteroideogénicas.

B. i. imbricata comparte, al inicio del desarrollo, características reproductivas con los escamosos que presentan placentas corioalantoideas primitivas pero en los estadios embrionarios tardíos posee características de las alantoplacentas más complejas hasta ahora descritas para los escamosos, por lo que resulta conflictivo ubicarla en alguno de los morfotipos descritos; pero dado que su huevo es megalécito y que los pliegues de la mucosa uterina no son tan pronunciados decidí ubicarla, apesar de la presencia de células binucleadas, como alantoplacenta tipo II. En esta categoría se ubican las alantoplacentas de T. sincoides, Leilopisma entrecasteauxii, L. metalica, L. ocellatum, L. pretiosa (Weekes, 1930).

### ***Membrana de la cáscara.***

Interesantemente muchas especies vivíparas presentan membrana de la cáscara o un remanente de ésta durante gran parte del desarrollo intrauterino (reptiles, Packard, 1977; canguros, Tyndale-Biscoe y Rintre, 1987); en B. i. imbricata nuestras observaciones han determinado que la membrana de la cáscara es acidófila y PAS positiva, al igual que en T. elegans, (Hoffman, 1970) y al observarla al microscopio electrónico se observan fibras que presentan el bandeo característico de las fibras de colágena. Llama la atención que pocos trabajos hayan sido hechos para determinar la importancia de esta estructura durante el desarrollo intrauterino. Hoffman (1970) demostró que puede actuar como barrera a ciertas moléculas, ya que el azul de metileno puede permearla, sin embargo esto no ocurre con el azul de Evans. Guillette (1989) ha sugerido que el adelgazamiento de la membrana de la cáscara facilitaría el intercambio de factores de reconocimiento entre la madre y el feto.

Por otro lado Xavier y col. (1989) han mostrado evidencias en L. vivipara de comunicación feto-madre mediante la liberación de mensajeros embrionarios que para alcanzar los tejidos maternos deben de atravesar la membrana de la cáscara. ¿Porqué en B. i. imbricata el rompimiento de la membrana de la cáscara se da en el último tercio de la preñez y no antes? Esta cubierta es producida por el oviducto por lo que es posible suponer que la integridad de esta membrana pudiera servir como una barrera protectora a la respuesta inmune durante el desarrollo temprano y que en el último tercio de la gestación, que es cuando pierde su integridad en B. i. imbricata, ya exista una regulación de esta respuesta que permita el contacto directo entre el corioalantoides y el endometrio uterino.

¿Cuál es el significado de la infiltración de leucocitos eosinófilos en la membrana de la cáscara únicamente en la región abembrionaria? Se sabe que una de las funciones fundamentales de los leucocitos eosinófilos de los mamíferos es la fagocitosis de complejos antígeno-anticuerpo (Benacerraf, 1986), además se ha demostrado que tienen diversas enzimas (p. e. colagenasa, sulfatasa, peroxidasa eosinofílica, (Gleich y col., 1980; Klebanoff y col., 1980; Weller y col., 1980) y que viajan al útero en respuesta a la elevación de los niveles de estrógenos (Tchernitchin 1976) por lo que se les ha involucrado en procesos reproductivos como la ovoimplantación (Martínez, 1985) y en la recuperación del útero en el puerperio (van Bogaert y Maldage, 1979) En los reptiles no existen estudios acerca de la función de los eosinófilos en los procesos reproductivos, pero tomando en cuenta las características que poseen estas células en los mamíferos podría proponerse que participan en la disgregación de la membrana de la cáscara así como en la recuperación del endometrio después del parto mediante la reorganización de la matriz extracelular. Es evidente que es necesario realizar más trabajo en este sentido para conocer adecuadamente el papel de estas células en los procesos reproductores.

## ***Cuerpo Lúteo, Progesterona y Viviparidad.***

Es comunmente conocido que en las hembras grávidas de los reptiles y otros vertebrados los cuerpos lúteos son órganos endocrinos transitorios (Browning, 1973) cuya regresión ocurre de manera natural, de acuerdo a la especie, a diferentes tiempos de la preñez (Xavier, 1988) y que existe una correlación positiva entre la actividad histológica del cuerpo lúteo y los niveles plasmáticos de progesterona (Veith, 1974; Villagrán, 1989; Callard y Lance, 1977; Higfill y Mead, 1975; Callard y col. 1972). En el ovario de B. i. imbricata se observa esta misma situación, la histología de los cuerpos lúteos mostró que el desarrollo de estas estructuras ocurre durante el primer tercio de la preñez y que al inicio del segundo tercio se presentan los primeros cambios degenerativos. Este proceso se acentúa conforme avanza el embarazo y concluye alrededor del parto. Recientemente Hernandez-Caballero (1997) determinó que en B. i. imbricata durante la preñez hay una correlación positiva entre los niveles de progesterona plasmática y el desarrollo histológico del cuerpo lúteo. Diversos autores han asignado un papel central al cuerpo lúteo en la evolución de la viviparidad y en el mantenimiento de la gestación por su capacidad de producir progesterona (Hissaw, 1959; Shine y Guillette 1988; Callard y col., 1992). Actualmente una serie de trabajos experimentales han demostrado que, a diferencia de las especies de reptiles ovíparos, sólo en ciertas especies de escamosos vivíparos el cuerpo lúteo es importante para mantener la gestación temprana y media; mientras que en otras especies su participación no es necesaria en ninguna fase de la gestación (Yaron, 1975). Por otro lado, hay evidencias indirectas que otras estructuras como los folículos atrésicos, las glándulas adrenales o la placenta podrían ser fuentes secundarias importantes de progesterona durante la preñez (Browning, 1973; Hoffman, 1970; Guillette y Fox, 1985). En este trabajo se determinó que la lutectomía practicada ya sea desde el inicio de la preñez (tres a seis días después de haberse detectado la ovulación) o al principio del segundo mes de la misma no promueven aborto pero interfieren con el trabajo de parto. Resultados similares han sido encontrados en T. sirtalis (Higfill y Mead, 1975) y en Lacerta vivípara (Panigel, 1956). Además se encontró que la extirpación de los cuerpos lúteos en B. i. imbricata no provocó cambios estadísticamente significativos en la concentración de progesterona plasmática cuando se mide ocho días después del tratamiento quirúrgico, en Tiliqua rugosa se encuentra una situación similar (Bourne y Seamark, 1972). Estos resultados además de proporcionarnos información real acerca de la importancia del CL en el mantenimiento de la gestación también podrían darnos idea de su

participación así como la de otras estructuras extraluteas en la evolución de la viviparidad. También se demostró que la extirpación de los folículos atrésicos vitelogénicos al inicio de la preñez en conjunto con la lutectomía no tiene efecto sobre la preñez, al menos durante el primer mes de la gestación. Méndez (1994) obtuvo resultados similares a los nuestros, practicó lutectomía y extirpación de los folículos atrésicos vitelogénicos en el primero y segundo tercio de la preñez de S. mucronatus y encontró que la preñez no fue afectada. Estos resultados sugieren que en B. i. imbricata: a) el cuerpo lúteo no es indispensable para que la gestación se lleve a cabo, pero que es importante para que el parto ocurra normalmente. Datos recientes apoyan esta propuesta, Hernández García y col (comunicación personal) observaron que la extirpación de los cuerpos lúteos en el último tercio de la preñez de B. i. imbricata provocaron anomalías en el parto (parto prematuro y parto disociado), b) que la progesterona es indispensable en el mantenimiento de la preñez y c) que existe una fuente secundaria capaz de asumir el mantenimiento endócrino de la gestación en ausencia del cuerpo lúteo.

Es posible proponer que este órgano secundario podría ser la glándula adrenal debido a dos circunstancias: 1) cuando se practicó la lutectomía y extirpación de los folículos atresicos al inicio de la preñez (diciembre y enero) no se ha formado aún ningún tipo de placenta, 2) La lutectomía no promueve diferencias significativas en los niveles de progesterona cuando se mide ocho días después de la cirugía. Cabe señalar que esta se practicó los primeros días de cada mes durante los primeros tres meses de la preñez. Al inicio del primero y segundo mes del embarazo no se ha formado todavía ningún tipo de placenta; la placenta coriovitelina se presentó a partir de la segunda quincena de enero y en febrero la onfaloplacenta y la alantoplacenta son incipientes y sus características histológicas, al igual que el de la placenta coriovitelina, no muestran el aspecto de ser órganos productores de esteroides; por lo que las glándulas adrenales serian la única fuente posible de progesterona en estas circunstancias. Por otro lado, en T. rugosus (Bourne, 1972) y en L. vivipara (Dauphin-Villemant y Xavier, 1985) demostraron la capacidad de las adrenales para producir progesterona. Los resultados obtenidos en este trabajo apoyan la hipótesis propuesta por Guillette (1985) y por Shine y Guillette (1988) de la participación de la glándula adrenal en la evolución de la viviparidad.

## ***Parto.***

Todas las hembras de B. i. imbricata sometidas a lutectomía presentaron parto anormal (parto prematuro, parto disociado y parto retardado) estos resultados pueden ser explicados con base en lo propuesto por Jones y Guillette (1982) y a los resultados encontrados por Guillette y col. (1991). Jones y Guillette (1982) propusieron que la variación en los niveles de hormonas esteroides inducen cambios en la sensibilidad de la musculatura del oviducto a la Avt, lo que trae como consecuencia anomalías en el parto. Recientemente Guillette y col. (1991) demostraron que los niveles elevados de progesterona en plasma inhiben el parto normal y causan la retención de los críos en el útero. De acuerdo a estos datos, existe entonces la posibilidad de que en B. i. imbricata los daños causados por la lutectomía (parto prematuro, parto disociado y parto retardado) sean provocados por cambios abruptos en los niveles de progesterona que interfieren con la disminución gradual en la preñez normal, de esta hormona, a partir de la segundo tercio de la preñez. Para verificar esta propuesta es necesario realizar experimentos en este sentido que nos lleven a conocer no sólo las concentraciones de progesterona plasmática sino también de estrógenos, Avt y prostaglandinas en hembras lutectomizadas a lo largo de la gestación.

En los reptiles ovíparos la participación del cuerpo lúteo es fundamental para el mantenimiento de la gravidez ya que la desluteinización promueve oviposición prematura (Cuéllar, 1969) pero en las especies de escamosos vivíparos experimentos similares producen consecuencias diferentes (tabla 1), por lo que la participación del cuerpo lúteo en la preñez de acuerdo a estos resultados y a los obtenidos en B. i. imbricata se pueden agrupar en tres categorías:

1) El CL no es esencial para el mantenimiento de la gestación ni para el parto (Chalcides ocellatus, Badir, 1968; Mabuya carinata Sekharappa y Devaraj-Sarkar, 1978).

2) El CL no es esencial para que la gestación se lleve a cabo. pero si participa en el parto (Tamnophis elegans Highfill y Mead, 1975; Lacerta vivípara, Panigel, 1956, Sceloporus cyanogenys Lien y Callard, 1968, B. i. imbricata)

3) El CL es esencial para el mantenimiento de la gestación (al menos en la gestación temprana y media) (Xantusia vigilis Yaron, 1972; Sceloporus jarrovi, Guillette, 1987).

Finalmente, la disminución en el tamaño de la camada es posible que pueda deberse a ovofagia intraespecífica de crías expulsadas prematuramente más que a la reabsorción embrionaria, como proponen otros autores (Yaron 1985). El cuidado parental de los críos después del parto es poco común en lagartijas (Shine 1988); en Xantusia vigilis se ha demostrado que la madre asiste a los críos al momento de emerger de sus membranas extraembrionarias. En B. i. imbricata se observó esta misma conducta en los tres partos que se tuvo la oportunidad de presenciar; además se observó que las hembras ingieren los residuos de las membranas extraembrionarias inmediatamente después de que los neonatos han emergido de ellas y que hace lo mismo con los críos que nacen muertos (sólo en dos ocasiones, en dos hembras del grupo control intacto) y con los huevos infértiles que expulsa (dos ocasiones, una en una hembra control con laparotomía y la otra en una hembra lutectomizada); pero previo a esto la hembra lleva a cabo un reconocimiento mediante lengüeteos a cada uno los críos de la camada. La ovofagia intaespecífica (ingestion de residuos de las membranas extraembrionarias, críos nacidos muertos y/o huevos infértiles) ha sido observada en diversas especies de reptiles vivíparos (Epicatus striatus, Hanlon, 1964, Tiliqua rugosa, Hitz, 1983; Sphenomorphus quoyii, Shine, 1988) así como el reconocimiento diferencial de los críos (Tiliqua rugosa Bull y col. 1994). Particularmente Neil y Allen (1962) observaron una situación similar a la que observamos en B. i. imbricata en la anaconda Eunectes gigas. Estas consideraciones apoyan la posibilidad que la disminución en el tamaño de la camada en B. i. imbricata, como anteriormente se señaló, se deba a ovofagia intraspecífica de críos prematuros sin que estos hayan podido ser registrados cuando nacieron. Recientemente Mitchel y Groves (1993) publicaron una revisión en donde señalan que este fenómeno es frecuente en los reptiles tanto ovíparos como vivíparos. Se acepta que la ovofagia intraespecífica es una actitud que esta relacionada con la conducta parental del cuidado del nido en escamosos ovíparos (Mitchel y Groves, 1993, Eumeces fasciatus, Groves, 1982, E. okadae, Hasegawa, 1984, E. septentrionalis.) ya que las hembras únicamente ingieren los huevos que contienen embriones muertos, pero en las especies vivíparas se desconoce cual es el motivo de esta conducta. Durante el desarrollo de este trabajo se observó directa e indirectamente (presencia de huevos o fetos en los estómagos de hembras recién habían parido) la ovofagia intraespecífica en B. i. imbricata.

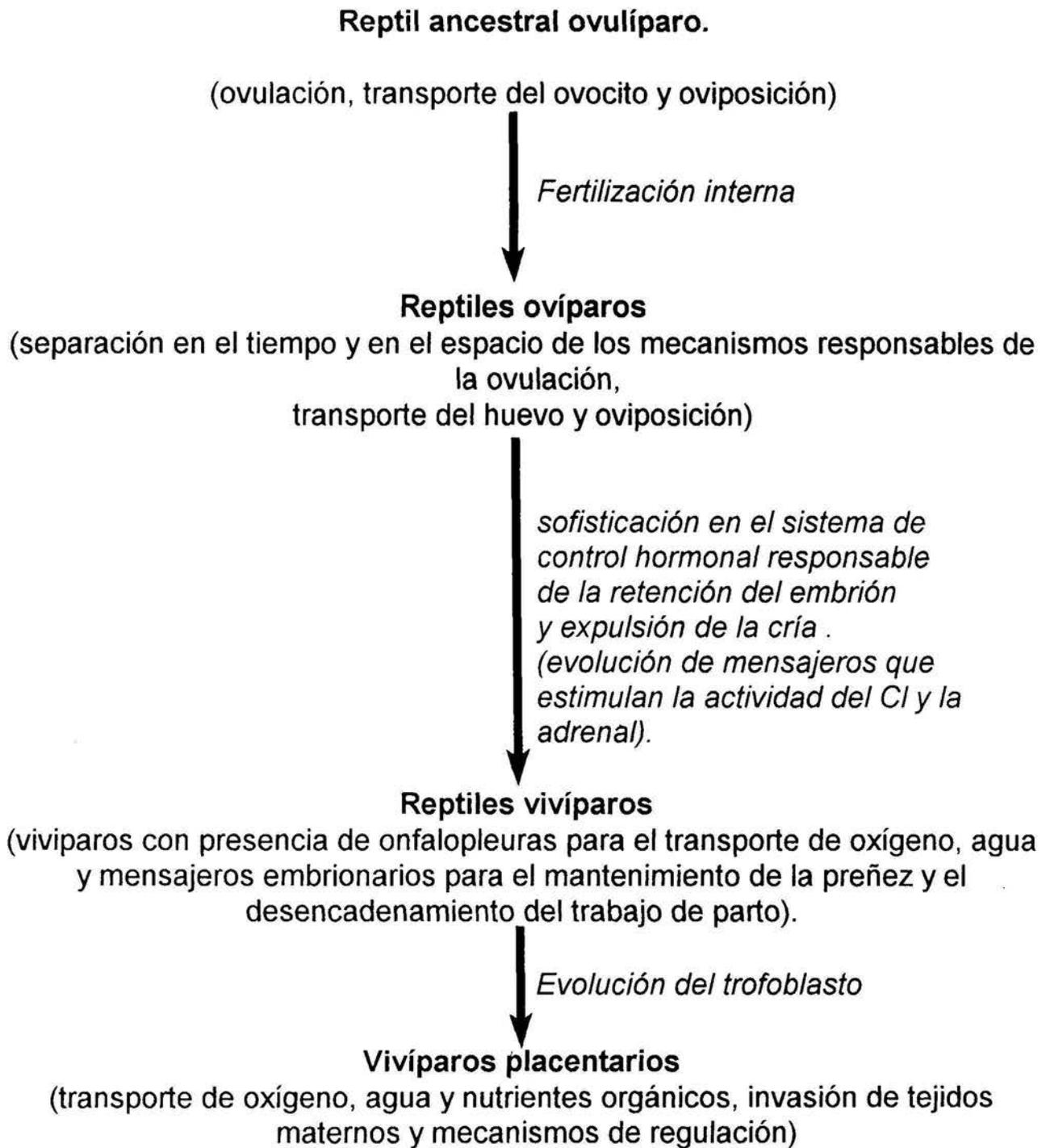
## *Evolución de la viviparidad*

Sin duda alguna, dentro de los tetrápodos, los reptiles es uno de los grupos donde han ocurrido los cambios más espectaculares en la evolución de las estrategias reproductoras. Se puede afirmar que dos factores fueron definitivos para que los reptiles tuvieran la posibilidad de evolucionar hasta alcanzar la viviparidad. El primero ocurrió en los reptiles adultos: la fertilización interna y el segundo en su embrión: la evolución del huevo amniota. Desde mi punto de vista, y de acuerdo con Hogart (1976), después de haber conseguido la fertilización interna, la separación en el tiempo y en el espacio de los mecanismos que controlan la ovulación, el transporte del huevo y la oviposición (inmediata como ocurre en todos los anfibios ovulíparos y como ocurrió, posiblemente, en los reptiles primitivos) hasta permitir que todo el desarrollo embrionario se complete en una región del "oviducto" y sea expulsado cuando haya alcanzado la capacidad de llevar una vida independiente de la madre, son los fenómenos más importantes que sucedieron en la hembra adulta y que permitieron pasar de la oviparidad a la viviparidad (figura 27). Los acontecimientos primarios más relevantes sucedieron en los ancestros ovíparos porque en ellos ocurrieron una serie de fenómenos que fueron posibles una vez que ocurrió la fertilización interna. Los cambios más relevantes son: a) Retención del huevo embrionado en el aparato reproductor. Esto fue conseguido mediante la evolución del folículo post-ovulatorio a un CL verdadero y b) la creación de un esfínter fisiológico en la frontera del oviducto y la vagina (Guillette, 1993). Para apoyar este punto de vista es necesario señalar lo siguiente. Es comúnmente conocido que en la mayoría de las especies de anfibios ovulíparos, los folículos post-ovulatorios no forman CLs verdaderos, de tal manera que la producción de progesterona (la cual es indispensable en la inducción de la maduración y liberación del ovocito, Shuetz 1990) queda prácticamente limitada al periodo preovulatorio y que el pasaje del ovocito a través del oviducto, el depósito de gelatina y expulsión del huevo (oviposición) son controlados por la exposición previa de los conductos reproductivos a hormonas ováricas (muy posiblemente progesterona) (La Pointe, 1977; Redshaw, 1972) mediada a través de la Avt (La Pointe, 1977) o prostaglandina F2 alfa (PG F2 $\alpha$ ) (Guillette, 1979, Guillette y col., 1988, 1990, 1991a, 1991b), por lo que es posible pensar que la formación de un cuerpo lúteo verdadero y el esfínter fisiológico en la parte posterior del oviducto evolucionaron inicialmente en los reptiles. En las especies ovíparos el pasaje del huevo es bloqueado en la parte posterior del oviducto por la presencia de este esfínter fisiológico en la frontera del oviducto

y la vagina y la oviposición se realiza cuando el embrión ya ha iniciado su desarrollo; en algunas especies de escamosos han alcanzado estadios relativamente avanzados (Podarcis bocagei, 22-26; P. hispanica, 24-27; L. viridis, L. sereiberi y P. muralis, 25-29; L. monticola, 28-31; y la población ovípara de L. vivipara, 30-34, Braña y col., 1991). En todos los reptiles estudiados los folículos post-ovulatorios forman CLs verdaderos (Xavier, 1987) y ha sido demostrado que su producto más importante es la progesterona. La remoción del CL en todas las especies ovíparas estudiadas (Xavier, 1987) promueve la disminución de la concentración de progesterona plasmática y la oviposición prematura (Cuéllar, 1979; Guillette, 1987; Xavier, 1987). Además, se ha encontrado que la luteólisis tiene una relación directa con la oviposición. Estas evidencias demuestran que: a) en los reptiles ovíparos ya se han establecido los mecanismos que separan a la ovulación del pasaje del embrión a través del oviducto y de la oviposición, y b) que el CL es el que regula estas funciones mediante la producción de progesterona utilizando a su vez como intermediarios a la Avt y a las prostaglandinas (PE2 y PF2 $\alpha$ ) (Guillette, 1990; Guillette y col., 1991a, 1991b).

Los mecanismos de control involucrados en la retención del embrión y su expulsión en cuanto hayan alcanzado la madurez suficiente como para llevar a cabo una vida independiente de la madre se volvieron más sofisticados durante la transición de la oviparidad a la viviparidad, pero la participación de la progesterona (ya sea de origen luteal o extraluteal) ha seguido siendo fundamental. Como ya ha sido señalado anteriormente Guillette, 1987 Shine y Guillette (1988) han propuesto un modelo para explicar la evolución de la viviparidad reptileana. Ellos sugieren que la progesterona y la corticoesterona liberadas de la adrenal promueven la retención del huevo y el retardo en la luteólisis (mediante la inhibición de la síntesis de prostaglandinas) respectivamente. Inicialmente en la evolución de esta estrategia reproductiva el desencadenamiento de la actividad aumentada de la adrenal fue promovida por el medio ambiente estresante para la hembra gestante. Los tratamientos quirúrgicos son agentes estresantes que pueden disparar un aumento transitorio en la actividad de la adrenal (Holzbauer y Newport, 1969, Hozbauer y col., 1969) como lo refleja nuestro modelo en B. i. imbricata. y simular la condiciones sugeridas por Guillette (1987) y Shine y Gillette (1988) al inicio de la evolución de la viviparidad; pero la adopción de ésta como una estrategia permanente involucró el establecimiento de un mecanismo más complejo que mantuviera la constancia en la producción de progesterona a lo largo de la gestación ya sea por alargamiento de la vida media del CL, o por la prolongación de la actividad aumentada de la glándula

adrenal. Para que cualquiera de estas dos situaciones fuera posible fue necesaria la evolución de mensajeros, muy posiblemente de origen embrionario, que estimularan la actividad de cualquiera de estas dos glándulas en aquellas especies donde aún el CL no es indispensable para el mantenimiento de la gestación. Los resultados obtenidos en este trabajo acerca del efecto de la lutectomía sobre el mantenimiento de la preñez y sobre los niveles de progesterona plasmática, así como los reportados por Panigel en L. vivipara (1956) y por Bourne (1972, 1986) y Bourne y Seamark (1972) en T. rugosa respaldan esta hipótesis. En una etapa posterior la adrenal perdió ésta función de apoyo y el CL acaparó el control sobre el mantenimiento de la gestación y el trabajo de parto y podría suponerse que en las especies que presentan esta condición (S. jarrovi, C. ocellatus) el CL y las luteotropinas extrahipofisarias (que pueden ser los mismos mensajeros hipotetizados anteriormente que estimulan a las adrenales y al CL u otros diferentes) evolucionaron e hicieron posible que el embrión participara de manera directa en el mantenimiento de su propia gestación. Finalmente, el trofoblasto evolucionó concomitantemente con la viviparidad; y en cada especie la participación de la placenta en el mantenimiento de la gestación depende del grado de evolución del trofoblasto, por lo que es posible que en algunas especies (p. e. en C. chalcides, M. heathi) participe en conjunto con otros órganos (CL y neurohipófisis) en el control de la gestación y el trabajo de parto.



**Figura 27.- Esquema hipotético de la evolución de la viviparidad en los reptiles**

## CONCLUSIONES.

1.- El cuerpo lúteo no es indispensable para el mantenimiento de la gestación en B. i. imbricata.

2.- La progesterona es necesaria para el mantenimiento de la gestación de B. i. imbricata.

3.- Existe un “órgano secundario” que en ausencia del CL es capaz de producir progesterona para el mantenimiento de la gestación.

4.- Durante el desarrollo embrionario de Barisia i. imbricata se presentan tres tipos de placentas: Placenta Coriovitelina, Onfaloplacenta y Placenta Corioalantoidea tipo II

5.- La alantoplacenta posee un “placentoma primitivo” con células binucleadas.

7.- El CL es importante para que el trabajo de parto se lleve a cabo normalmente.

## APENDICE

### **Reactivos y soluciones para el Radioinmunoanálisis (RIA) de progesterona.**

*1.- Gamaglobulina de Ratón Antiprogesteroa.*

*2.- Estandar de Progesterona.*

*3.-Trazador de Progesterona.*

*4.- Solución de Centelleo Líquido*

*5.- Éter Dietílico libre de Peróxidos.*

*6.- Amortiguador de RIA (Amortiguador de Fosfatos 0.1 M).*

(Reactivos requeridos para preparar 1 litro de solución)

| REACTIVO                              | CANTIDAD EN GRAMOS |
|---------------------------------------|--------------------|
| Fosfato de sodio monobásico anhidro   | 2.35               |
| Fosfato de sodio monobásico hidratado | 2.79               |
| Fosfato de sodio dibásico anhidro     | 11.6               |
| Cloruro de sodio                      | 8.8                |
| Thimerosal                            | 0.1                |
| Gelatina                              | 1.0                |

*7.-Suspensión de Carbón Dextran.*

(Reactivos requeridos para 100 ml de solución)

| REACTIVO            | CANTIDAD |
|---------------------|----------|
| Carbón activado     | 0.625 g  |
| Dextrán T-70        | 0.0625 g |
| Amortiguador de RIA | 100 ml   |

## ***Técnica de Radioinmunoanálisis (RIA) para Progesterona.***

La técnica de RIA practicada en este trabajo utiliza un radiotrazador marcado con con tritio y una suspensión carbón-dextrán para la separación de las fracciones libres y unidas del trazador al anticuerpo.

### **Preparación de las muestras (extracción).**

Se transfiere la alícuota a un tubo de vidrio de 20 ml, se adicionan 5.0 ml de éter dietílico previamente enfriado a 4°C y se agitan los tubos en un vortex durante un minuto, se dejan reposar por 1 minuto para separar la fase acuosa de la orgánica y se colocan en un baño de hielo seco-acetona. Se decanta la fase orgánica a otro tubo se evapora a sequedad a 37 °C dentro de una campana de extracción. A estos tubos se les adiciona 2.0 ml de amortiguador de fosfatos y se resuspenden mediante agitación y se incuban a 37 °C durante 30 minutos. Se agitan en un vortex durante un minuto y de esta suspensión se transfiere por duplicado 100 µl a tubos de RIA.

### **Montaje del ensayo**

En cada tubo se colocan 100 µl de la hormona marcada, 100 µl de anticuerpo contra progesterona y 100 µl de amortiguador de fosfatos, se agitan en vortex durante 10 segundos y se incuban durante 18 horas a 4°C. se agregan 200 µl de carbón-dextrán y se centrifugan a rpm 3000 durante 15 minutos a 4 °C (Centrífuga Beckman J 100). Posteriormente se decanta el sobrenadante a viales de centelleo, se le agregan 5 ml de líquido de centelleo y se agitan en vortex durante 30 segundos ( luego de este paso se limpia cada vial con etanol). Se dejan 24 horas protegidos de la luz a temperatura ambiente y finalmente se procede a contar en un contador de centelleo para emisiones β (Pakard δ 500.).

Las cuentas obtenidas fueron procesados con el programa WHO (Organización Mundial de la Salud) para transformarlas a nanogramos/ml.

## Control de Calidad.

Para determinar la reproducibilidad y la sensibilidad de los ensayos, se elaboró la curva estándar para progesterona. Las condiciones para desarrollar la curva se describe en el siguiente cuadro:

| Tubo     | PBS | Ac  | Estandar | Extracto | trazador | C/D |
|----------|-----|-----|----------|----------|----------|-----|
| CT       | 800 |     |          |          | 100      |     |
| UNE      | 600 |     |          |          | 100      | 200 |
| CERO     | 500 | 100 | -        |          | 100      | 200 |
| CURVA    |     | 100 | 500      | -        | 100      | 200 |
| PROBLEMA | -   | 100 | -        | 500      | 100      | 200 |

### REACTIVOS Y VOLUMEN ( $\mu$ l) QUE SE AGREGA A LOS DIFERENTES GRUPOS DE TUBOS

En este cuadro se indican los grupos de tubos que se prepararon para el ensayo. El volumen final por tubo es de 900  $\mu$ l. Los tubos denominados CT (Cuentas Totales) sólo contienen Amortiguador de Fosfatos (PBS) y el trazador. El tubo UNE contiene PBS, trazador y la solución carbón-dextrán (C/D). La ausencia de anticuerpo contra progesterona permite cuantificar la unión no específica del antígeno o daño en el ensayo. El tubo denominado CERO incluye el PBS, anticuerpo, el trazador y el carbón-dextrán. En estos tubos se calcula el porcentaje de unión del anticuerpo a la hormona marcada. El tubo de la CURVA incluyen el estándar respectivo, el anticuerpo, el trazador y el carbón-dextrán; aquí se cuantifica la competencia por los sitios de unión al anticuerpo de parte del antígeno frío o estándares y del trazador. En los tubos PROBLEMA contienen la fracción de los sueros a medir, el anticuerpo, el trazador y el carbón-dextrán para medir la cantidad de hormona desconocida contenida en la muestra problema mediante la competencia por los sitios de unión al anticuerpo. de parte del trazador y la muestra problema.

Además se incluyeron en la curva estándar sueros control (alto medio y bajo) por duplicado donados por la Organización Mundial de la Salud (WHO RIA Reagent Programme, Bach-K200710) al Instituto Nacional de la Nutrición.

## ***I -Técnica para procesar huevos telolécitos de acuerdo a Yaron (1971).***

- 1.- Los huevos telolécitos (en nuestro caso embriones) después de la fijación se lavan en agua corriente durante 3 horas.
- 2.- Se colocan en un baño de etanol al 70% durante 2 horas.
- 3.- A continuación se colocan en una solución de Fenol al 5% en etanol al 80%.
- 4.- Posteriormente se colocan en tres baños de N-Butanol, cinco horas en cada baño.
- 5.- Se transfieren posteriormente a un baño de Butanol-Xilol.
- 6.- Posteriormente se procede a la impregnación en parafina en un horno a 60 C conectado al vacío.
- 7.- Finalmente se incluye en parafina las muestras y se elaboran los cortes histológicos seriados de los embriones de 7-10  $\mu\text{m}$  de grosor.

## ***II Técnica para procesar tejidos para cortes histológicos de rutina (de acuerdo a Luna, 1968)***

- 1.- Después de la fijación, se colocan en un baño de agua corriente (4 horas o más, dependiendo del tiempo de fijación)
- 2.- Se procede a la deshidratación en baños de alcoholes graduales (en nuestro caso etanol), desde etanol al 70% hasta etanol absoluto.
- 3.- Una vez deshidratado se procede al aclaramiento con Xileno absoluto (dos baños, 1 hora cada baño).
- 4.- En seguida se procede a la impregnación con parafina de 56-58 C de punto de fusión (se pasa por tres baños, de 2 horas cada uno).
- 5.- Finalmente se incluyen en parafina del mismo punto de fusión para posteriormente elaborar los cortes histológicos.

**III Técnica de tinción de rutina con  
Hematoxilina y Eosina  
(de acuerdo a Luna, 1968)**

- 1.- Los cortes se desparafinan en Xileno (se aplican 2 baños, 3 minutos en cada uno).
- 2.- Se procede a la rehidratación con alcoholes graduales, desde etanol absoluto hasta alcohol al 70 % posteriormente a agua destilada.
- 3.- Se colocan en Hematoxilina de Harris por 7 min.
- 4.- Se elimina el exceso de Hematoxilina con un baño rápido de agua corriente
- 5.- Se dan dos baños rápidos en agua amoniacal.
- 6.- Se diferencia en alcohol ácido.
- 7.- Se colocan en Eosina alcohólica durante 1 minuto.
- 8.- Se deshidratan en alcoholes graduales desde etanol al 90% hasta alcohol absoluto.
- 9.- Se montan con resina sintética.

**Técnica de ácido Peryódico de Shiff  
(Técnica de PAS)  
de acuerdo a Humasson, 1972)**

- 1.- Una vez hechos los cortes y adheridos al portaobjetos se procede adespaparafinarlos con Xileno (2 baños, tres minutos en cada uno).
- 2.- Se hidratan con alcoholes graduales desde etanol absoluto hasta agua destilada.
- 3.- Se introducen en Ácido Peryódico al 0.5 % durante 5 minutos.
- 4.- Se lavan en agua destilada.
- 5.- Se introducen al Reactivo de Shiff durante 20 minutos
- 6.- Se lavan en agua corriente durante 5 minutos.
- 7.- Se tiñen en Hematoxilina durante 7 minutos.
- 8.- Se lavan en agua corriente.
- 9.- Se da un paso rápido por alcohol ácido.
- 10.- Se lava en agua corriente.
- 11.- Se da un paso rápido por agua amoniacal.
- 12.- Se lavan durante 5 minutos en agua corriente.
- 13.- Se deshidratan en alcohol al 96 % (3 minutos y etanol absoluto (2 cambios, cada uno de 5 minutos).
- 14.- Se aclaran en Xileno y finalmente se montan en resina sintética.

***Técnica de reprocesamiento de cortes histológicos  
microscopía Electrónica de Transmisión  
(de acuerdo fundamentalmente al método descrito por  
González-Angulo y col.,1978 y Ruíz de Chávez y col. 1978).***

- 1.- Se marca con lápiz de punta de diamante la zona de interés.
- 2.- Se remueve el cubreobjetos sumergiendo la preparación en Xileno (el tiempo es variable, pues depende del tiempo que la preparación de haber sido montada).
- 3.- Una vez retirado el cubreobjeto se aclara en Xileno y transfiere a una solución de Xileno-Etanol absoluto (1 a 1) durante 1 minuto.
- 4.- Se deshidrata en alcoholes graduales desde alcohol absoluto hasta alcohol del 50%
- 5.- Se lleva a cabo la post-fijación durante 30 minutos con una solución de Tetróxido de Osmio al 1% en Amortiguador de Cacodilato a pH 7.2.
- 6.- Se lava con Amortiguador de Cacodilato.
- 7.- Se deshidratan en alcoholes graduales desde etanol al 50% hasta etanol absoluto.
- 8.- Se incluyen en resina (en este caso se utilizó resina Spurr) y se deja polimerizar por 24 hrs.
- 9.- Se obtienen cortes plateados (de 60 nm en promedio)
- 10.- Se contrastan los cortes con acetato de plomo (3 minutos) y acetato de uranilo (20 minutos) para ser posteriormente observados en microscópico electrónico de transmisión.

## LITERATURA CITADA

Acuña-Mesen, A. R. (1986). Comparación de la ultraestructura de la cáscara del huevo de la tortuga Rhinochemmys pulcherima con la de los huevos de otros reptiles. **Rev. Biol. Trop.** 35: 41-48.

Ambrose, III, H. W. and K. P. Ambrose (1987). A handbook of biological investigation. 4ª Ed., Hunter Textbooks Inc., Winston-Salem, North Carolina, pp. 204.

Angelini, F. y G. Ghiara (1984). Reproductive modes and strategies in vertebrate evolution. **Bull. Zool.** 51: 121-203.

Arslan, M.; P. Zaidi; J. Lobo; A. A. Zaidi and M. H. Qazi (1978). Steroids levels in preovulatory and gravid lizards (Uromastix hardwicki). **Gen. & Comp. Endocrinol.**, 34: 300-303.

Badir, N. (1968). Structure and function of corpus luteum during gestation in the viviparous lizard Chalcides ocellatus. **Anat Anz. Bd.** 22 S. 1-10.

Bauchat, C. A. and D. Vleck (1990). Metabolic consequences of viviparity in a lizard, Sceloporus jarrovi. **Physiol. Zool.**, 63: 555-570.

Bauchot, R. (1965). La placentation chez les reptiles. **Ann. Biol. T. IV Fasc.** 9-10: 547-575.

Bellairs, R.; I. Griffiths and Bellairs A. d'A. (1955). Placentation in the adder, Vipera berus. **Nature, Lond.**, 156: 657-658.

Benacerraf, B. y E. R. Unanue (1980). Inmunología. 2a Ed., ed. Panamericana. pp. 238.

Berner, N. J. and R. L. Ingermman (1988). Molecular basis of the difference in the oxygen affinity between maternal and foetal red blood cells in the viviparous garter snake Thamnophis elegans. **J. Exp. Biol.**, 140: 437-453.

Bertin. L. (1952). Oviparité, ovoviviparité, viviparité. **Bull. Soc. Zool. Fr.**, 77: 84-88.

- Betz, T. W. (1963). The ovarian histology of the diamond-backed water snake, Natrix rombifera, during the reproductive cycle. **J. Morphol.**, 113: 245-260.
- Beuchat, C. and D. Vleck (1990). Metabolic consequences of viviparity in a lizard, Sceloporus jarrovi. **Physiol. Zool.**, 63: 555-570.
- Birchard, G. F. C.; C. P. Black; G. W. Shuett and V. Black. (1984). Foetal maternal-blood respiratory properties of a ovoviviparous snake the cotton mouth, Agkistrodon piscivorus. **J. Exp. Biol.**, 108: 247-255.
- Blackburn, D. G. (1981). An evolutionary analysis of vertebrate viviparity. **Amer. Zool.** 21: 936.
- Blackburn, D. G. (1982a). Evolutionary origins of viviparity in the reptilia. I. Sauria. **Amphibia-Reptilia**, 3: 185-202.
- Blackburn, B. G. (1982b). Classification of the reproductive modes of vertebrates. **Amer. Zool.** 22: 910
- Blackburn, D. G. (1985). Evolutionary origins in the viviparity in the reptilia. II. Serpentes, Amphisbaenia and Ichthyosauria. **Amphibia-Reptilia**: 5: 259-291.
- Blackburn, D. G. (1986) A review and revision of allanto-placental morphotypes in reptiles. **Amer. Zool.** 26: 115A
- Blackburn, D. G. (1989) A saltatory model for the evolutionary origin of the viviparity and placentotrophy in reptiles. **Amer. Zool.**, 29: 133A.
- Blackburn, D. G. (1992). Convergent evolution of viviparity, matrotrophy and specializations for fetal nutrition in reptiles and other vertebrates. **Amer. Zool.**, 32: 313-321.
- Blackburn, D. G. (1993a). Standardized criteria for the recognition of the reproductive modes in squamate reptiles. **Herpetologica** 49: 118-132.
- Blackburn, D. G. (1993b) Chorioalantoic placentation in squamate reptiles: structure, function, development and evolution. **J. Exp. Zool.**, 266: 414 -430.

- Blackburn, D. G. (1993c) Histology of the late-stage placentae in the matrotrophic skink Chalcides chalcides (Lacertilia: Scincidae). **J. Morphol.**, **216**: 179-295.
- Blackburn, D. G. and L. J. Vitt (1984). Placentation and adaptations for fetal nutrition in a viviparous scincid lizard. **Amer. Zool.**, **24**: 64A.
- Blackburn, D. G.; L. J. Vitt and C. A. Beuchat (1984). Eutherian like-reproductive specializations in a viviparous reptiles. **Proc. Nac. Acad. Sci. U.S.A.**, **81**: 4860-4863.
- Blackburn, D: G.; J. R. Stewart; L. H. Hoffman and D., C. Baxter (1992). Scanning electron microscopy of the placental membranes in the viviparous garter snakes of the genus Thamnophis. **Amer. Zool.**, **32**:139A.
- Bonna-Gallo, A.; P. Lich; D. MacKenzie and B. Lofts (1980). Annual cycles in levels of pituitary and plasma gonadotropins, gonadal steroids and thyroid activity in the Chinese cobra, Naja naja. **Gen. Comp. Endocrinol.**
- Bourne, A. R. (1972). Reproductive endocrinology of the viviparous lizard Tiliqua rugosa. Ph. D. Thesis, Univ. of Adelaida, Australia.
- Bourne A. R. (1981). Progesterone like activity in the plasma of the viviparous skink, Trachidosaurus rugosus (stump-tailed lizard). **Proc. Melbourne Herp. Symp.**, **17**. 24-27
- Bourne. A. R. and R. F. Seamark (1972). Progestins in the plasma of a viviparous lizard, Tiliqua rugosa (Gray). **J. Reprod. & Fert.**, **28**: 156-157.
- Bourne, A. R.; B. J. Stewart, and T. G. Watson (1986). Changes in blood progesterone concentration during pregnancy in the lizard Tiliqua (Trachydosaurus) rugosa. **Comp. Biochem. Physiol.**, **84A**: 81-83.
- Boyd, M. M. (1942). The oviduct, foetal membranes, and placentation in Hoplodactylus maculatus (Gray). **Proc. Zool. Soc. London (A)**, **112**: 65-104.
- Bragdon, D. (1951). The non essentiality of the corpora lutea for the maintenance of gestation in certain live-bearing snakes. **J. Exp. Biol.**, **118**: 419-435.

Bragdon, D. (1952). Corpus luteum formation and follicular atresia in the common garner snake, Thamnophis sirtalis. **J. Morphol.**, **91**: 413-445.

Braña, F.; A. Bea and M. J. Arrayago (1991). Egg retention in the lizard lacertids: relationship with reproductive ecology and the evolution of viviparity. **Herpetologica**, **47**: 218-226.

Browning, H. (1973). The evolutionary history of the corpus luteum. **Biol. Reprod.**, **8**: 128-157.

Bull, C. M.; M. Doherty; L. R. Shulze and Y. Pamula (1994) Recognition of offspring by females of the Australian skink, Tiliqua rugosa. **J. Herpetol.**, **28**: 120-126.

Buns, J. and Saint Girons H. (1962). Ecology et sexual cycle sexuel des amphisbeniens du Maroc. **Bull. Soc. Sci. Nat. Phys. Maroc.**, **43**: 117-158.

Bürgin, T. (1990). Reproduction in middle triassic actinopterygians; complex fin structures and evidence of viviparity in fossil fishes. **Zool. J. Linn Soc.**, **100**: 379-391.

Byskov, A. G. (1978). Follicular atresia, pp, 533-562, en *The Vertebrate Ovary: Comparative Biology and Evolution*. R. E. Jones (Ed.). Plenum Press, New York.

Callard, I. P. and J. H. Leathem (1965). *In vitro* steroid synthesis by the ovaries of elasmobranchs and snakes. **Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exper.**, **54**: 35-48.

Callard I. P. and J. Dolittle, (1973). The influence of intrahypotalamic implants of progesterone on ovarian growth and function in the ovoviviparous iguan lizard Sceloporus cyanogenys. **Comp. Biochem. Physiol.** **44A**: 625-629.

Callard, I. P. and M. Hirst (1976). The influence of estradiol-17 $\beta$  (and progesterone on the contracty of the oviduct of the turtle Crysemys picta in vitro. **J. Endocrinol.**, **68**: 147-152.

Callard, I. P. and S. M. Kleis (1987). Reproduction in reptiles, pp. 187-206; en: *Fundamentals of Comparative Vertebrate Endocrinology*. I. Chester Jones, P. M. Inleton and J. G. Phillips (eds.) Plenum Press. New York and London.

Callard, I. P. and V. Lance (1977). The control of the reptilean follicular cycles, 199-209, en: *Reproduction and Evolution*. Proc. 4th Int. Symp. Comp. Biol. Reprod. Australian Acad. Sci., Canberra.

Callard, I. P.; C. C. Bayne and W. F. McConnell (1972a). Hormones and reproduction in the female lizard, Sceloporus cyanogenys. **Gen. & Comp. Endocrinol.** **18: 175-174.**

Callard, I.; S. W.; C. Chan and M. A. Potts (1972b) The control of the reptilian gonad. **Am. Zool.** **12: 273-287.**

Callard, I. P.; L. A. Filleti; L. E. Pérez; L. A. Sorbera; G. Giannoukos L. L. Klosterman; P. Tsang and J. A. McCracken. (1992). Role of the corpus and progesterone in the evolution of vertebrate viviparity. **Amer. Zool.** **32: 264-275.**

Camarillo, J. L. (1981) Distribución altitudinal de la herpetofauna en el transecto Huitzilac, Morelos-La Ladrillera, Edo. de México. Tesis de Licenciatura. Esc. Nal. Est. Prof. Iztacala, U.N.A.M. México.

Camarillo, J. L. (1990). Relationship between reproductive madality and elevational distribution of the Sceloporus aneus complex (Sauria: Iguanidae) in the state of México, México. **Bull. Marylan Herp. Soc., 26: 39-54.**

Cate-Hoedmaker, N. J. T. (1933). Beiträge zur Kenntnis der Plazentation bei Haien und Reptilien. **Z. Zellforsch.** **18: 299-345.**

Chan, S. W. C.; S. Ziegel and I. P. Callard (1973). Plasma progesterone in snakes. **Comp. Biochem. Physiol., 44A: 631-637.**

Conaway, C. H. and W. R. Fleming (1960). Placental transmission of  $\text{Na}^{22}$  and  $\text{I}^{131}$  in Natrix. **Copeia, 1960: 53-55.**

Cree, A. and J. L. Guillette (1991). Effect of  $\beta$ -adrenergic stimulation on uterine contraction in response to arginine vasotocin and prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  in the geko Hoplodactylus maculatus. **Biol. Reprod.**, **44**: 499-510.

Cuellar, H. S. (1979). Disruption of gestation and egg shelling in the deluteinized oviparous whiptail lizard Cnemidophorus uniparens (Reptilia: Teiidae). **Gen. Comp. Endocrinol.**, **9**: 150-157.

Cuellar, O. (1966). Oviductal anatomy and sperm storage in the lizards, **J. Morphol.**, **119**: 7-20.

Cuellar, O. (1970). Egg transport in lizards. **J. Morphol.**, **130**: 129-136.

Cunhinhham J. T., and W. A. M. Smarth (1934). The structure and origen of corpora lutea in some of the lower vertebrata. **Proc. R. Soc. London Ser B.** **116**: 258-281.

Cyrus R. V., Mahmoud, I. Y. and Klicka J. (1978). Fine structure of the corpus luteum of the snnaping turtle, Chelydra serpentina. **Copeia**, **1978**: 622-627.

Daniel, W. W. (1977). Bioestadística: Base para el Análisis de las Ciencias de la Salud. Ed. Limusa. México. pp. 478.

Dauphin-Villemant, C. and Xavier, F.(1985). In vitro Steroid biosynthesis by the adrenal gland of the female Lacerta vivipara Jacquin. The metabolism of exogenous precursors. **Gen. & Comp. Endocrinol.**, **58**: 1-9.

Dumbrack, R. L.;and Ramsay, M: A. (1989). The evolution of viviparuty in amniote vertebrate: egg retention versus egg size reduction. **Am. Nat.**, **133**: 138-148.

Dufaure, J. P. et J. Hubert (1961). Table de developemmentdu lizard vivipare: Lacerta (Zootoca) vivipara Jacquin. **Archiv. Anat. Microscop. Morphol. Exp.**, **50**: 309-328.

Durán, D. A., A. E. Cisneros, M. A. Fernández, J. R. Gersenowies, S. Meraz y A Vargas (1986). Manual de técnicas estadísticas. Esc. Nal. Est. Prof. Iztacala U. N. A. M., pp. 140. Mexico.

- Duval, D.; L. J. Guillette and R. E. Jones (1982). Environmental control of reptilian reproductive cycles. *Biology of the Reptilia*. Vol 13, pp. 201-232.
- Elinson, R. P. (1989). Egg evolution, pp. 251-262, en: *Complex Organismal Functions: Integration and Evolution in Vertebrates*. D. W. and G. Roth (eds.). Jhon Wiley & Sons, New York.
- Ferguson, B. and S. D. Bradshaw (1991). Plasma arginine vasotocin, progesterone and luteal development during pregnancy in the viviparous lizard Tiliqua rugosa. *Gen. & Comp. Endocrinol.*, 82: 140-151.
- Fitch, H. S. (1970). Reproductive cycles in lizard and snakes. *Univ. Kansas Mus. Hist. Nat., Misc. Publ.* 52: 1-247.
- Fox, H. (1977) The urogenital system of reptiles, pp. 1-158, en *Biology of the Reptilia* Vol 6. C. Gans and T. S: Parsons (eds.). Academic Press, New York.
- Ghiara, G., F. Angelini and V. D'Uva (1984). Data and problems on reptilian viviparity. *Acta. Embryol. Morphol. Exp., n. s.,* 5: 206-207.
- Ghiara, G.; F. Angelini M. Zerani; A. Gobbetti; G. Cafiero and V: Caputo (1987). Evolution of viviparity in scincidae (Reptilia: Lacertilia). *Acta Embryol. Morphol. Exper., n. s.* 8: 187-201.
- Giacomeni, E. (1891). Materiaux pour l'etude du developpment du Steps chalcides. *Arch. Ital. Biol.*, 16: 332-359.
- Giacomeni, E. (1906). Sulla maniera di gestazione e sugle annessi embrionali del Gogylus ocellatus. *Forsk. Men. Accad. Sci. Bologna*, 3: 401-440.
- Gleich, G. J.; D. A. Loegerging; E. Frigas; D. L. Wassom; G. O. Solleyand K. G. Mann (1980). The mayor basic protein of the eosinophil granule: Physicichemical properties, localization and function; pp 43-59, en: *The Eosinophil in the Heald and Disease*. A. F. Mahmoud; K. F. Austen and A. S. Simon, (eds.). Grune Stratio, London.
- Goldberg, S. R. (1970). Seasonal ovarian histology of the ovoviviparous iganid lizard Sceloporu jarrovi Cope. *J. Morphol.*, 132: 265- 276.

González-Angulo A.; I. Ruíz de Chávez and M. Castañeda (1978). A reliable method for electron microscopic examination of specific areas from paraffin-embedded tissue mounted on glass slides. **Amer. J. Clin. Pathol.**, 70: 697-699.

Grigg, G. C. and P. Harlow (1981). A fetal maternal shift of blood oxygen in an australian viviparous lizard, Sphenomorphus quoyii (Reptilia: Scincidae). **J. Comp. Physiol.**, 142: 495-499.

Groves, J. D. (1982). Egg-eating behavior of brooding five lined skinks, Eumeces fasciatus. **Copeia**, 1982: 969-971.

Guillette, L. J. (1979). Corpus luteum development and placentation in the viviparous lizard Sceloporus jarrovi. M. A. Thesis, Univ. of Colorado. U.S.A.

Guillette, L. J. (1979b) Stimulation of a parturition in the viviparous lizard (Sceloporus jarrovi) arginine vasotocin. **Gen. & Comp. Endocrinol.**, 38: 457-460.

Guillette, L. J. (1981). Reproductive strategies and the evolution of the viviparity in the viviparity in two allopatric populations of the mexican lizard, Sceloporus aneus. PH. D. thesis, Univ. of Colorado U.S.A.

Guillette, L. J. (1981b). On the occurrence of oviparous and viviparous forms of the mexican lizard Sceloporus aneus. **Herpetologica**, 37: 11-15.

Guillette, L. J. (1982a). A physiological (Ringer's) solution for anoline lizard, **Herp. Rev.**, 13: 37-38.

Guillette, L. J. (1982b). The evolution of viviparity and placentation in the high elevation Mexican lizard Sceloporus aneus. **Herpetologica**, 38: 94-103.

Guillette, L. J. (1987). The evolution of viviparity in fishes, amphibians and reptiles: an endocrine approach; pp. 523-562, en: *Hormones and Reproduction in Fishes, Amphibians and Reptiles*. D. O. Norris and R. E. Jones Eds., Plenum Publishing Corporation.

Guillette, L. J. (1989). The evolution of vertebrate viviparity: morphological modifications and endocrine control, pp. 219-233, en *Complex Organismal Functions: Integration and Evolution in Vertebrates*. J. Willey & Sons, New York.

Guillette, L. J. (1991). The evolution of viviparity in amniota vertebrates: new insights, new questions. *J. Zool. Lond.*, **223**: 521-526.

Guillette, L. J. (1993). The evolution of viviparity in lizards. *Bioscience*, **43**: 742-751.

Guillette, L. J. and H. M. Smith (1982). A review of the Mexican lizard Barisia imbricata with the description of the new subspecies. *Trans Kansas Acad. Sci.*, **85**: 13-33.

Guillette, L. J. and R. E. Jones (1985). Ovarian, oviductal and placental morphology of the reproductively bimodal lizard species, Sceloporus aneus. *J. Morphol.*, **184**: 85-98.

Guillette, L. J. and S. L. Fox (1985). Effect of desluteinization on plasma progesterone concentration and gestation in the lizard Anolis carolinensis. *Comp. Biochem. Physiol.*, **80A**: 303-306.

Guillette, L. J. and G. Casas-Andreu (1987). The reproductive biology of the high elevation Mexican lizard Barisia imbricata. *Herpetologica*, **43**: 29-38.

Guillette, J. L., R. E. Jones, K. T. Fitzgerald and H. M. Smith (1980) Evolution of viviparity in the lizard genus Sceloporus. *Herpetologica*. **36**: 201-215.

Guillette, L. J.; S. Spielvogel and F. L. Moore (1981). Luteal development, placentation and plasma progesterone concentration in the viviparous lizard Sceloporus jarrovi. *Gen. & Comp. Endocrin.*, **43**: 20-29.

Guillette, L. J.; C. A. Herman and D. A. Dickey (1988). Synthesis of prostaglandins by tissues of viviparous lizard, Sceloporus jarrovi. *J. Herp.*, **22**: 180-185.

Guillette, L. J., T. S. Gross, J. H. Matter, and B. D. Palmer (1990). Arginine vasotocin-induced prostaglandin synthesis in vitro by the reproductive tract of the viviparous lizard Sceloporus jarrovi. **Prostaglandins**, 39: 39-51.

Guillette, L. J.; V. de Marco; B. D. Palmer (1991a). Exogenous progesterone or Indomethacin delays parturition in the viviparous lizard Sceloporus jarrovi. **Gen. & Comp. Endocrin.**, 81: 105-112.

Guillette, L. J.; D. H. Dubois and A. Cree (1991b). Prostaglandins oviductal function and parturient behavior in nonmammalian vertebrates. **Am. J. Physiol.**, 260: R854-R861.

Guraya S. S. (1976). Recent advances in the morphology, histochemistry and biochemistry of steroid-synthesizing cellular sites in the non-mammalian vertebrate ovary. **Int. Rev. Cytol.**, 44: 365-409.

Guraya, S. S. (1978). Maturation of the follicular wall of nonmammalian vertebrates, pp. 230-261, en: *Vertebrate Ovary: Comparative Biology and Evolution*. R. E. Jones (ed.). Plenum Press.

Guraya, S. S. and S. K. Varma (1976). Morphology of the ovarian changes during the reproductive cycle of the house lizard Hemidactylus flaviviridis. **Acta Morphol. Nerrl-Scand.**, 14: 165-192.

Hamlet, W. C. and J. J. Rasweiler IV (1993) Comparative gestation and placentation in vertebrates. **J. Exp. Zool.**, 266: 343-346.

Hanlon, R. W. 1964. Reproductive activity of the Bahaman boa (Epicrates striatus). **Herpetologica**, 20: 143-144.

Harrison L. and C. H. Weekes (1925). On the occurrence of placentation in the scincid lizard, Lygosoma entrecausteaxuxi. **Proc Linn. Soc. N. S. W.**, 50: 472-486.

Hasegawa, M. (1985). Effect of brooding on egg mortality in the lizard Eumeces okadae on Miyaki-Jima, Izu Island, Japan. **Copeia**, 1985: 497-500.

Hatton; L. R. and D. H. Gist (1975) Seminal receptacles in the Eastern Box turtle, Terrapene carolina. **Copeia**, 1975: 505-510.

Heap, R. B.; E. C. Amoroso and M. B. Renfre (1979). Hormones and evolution of viviparity, pp. 925-989, en Hormones and Evolution. E. J. W. Barrington, Vol 2. Academic Press. New York, San Francisco, London.

Heimlich, E. M. and M. G. Heimlich (1950). Uterine changes and placentation in the yucca night lizard. *J. Entomol. Zool.* **42**: 5-12.

Heller, H. (1972). The effect of neurohypophyseal hormones in the female reproductive tract of lower vertebrates. *Gen & Comp. Endocrinol. Suppl.*, **3**: 703-714.

Hernández-Caballero, M. E. (1997). Características histológicas del cuerpo lúteo y su relación con los niveles plasmáticos de progesterona y con el desarrollo embrionario en la lagartija vivípara Barisia imbricata imbricata (REPTILIA: ANGUILLAE). Tesis Profesional, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Hernández-García, M. E. (1997). Evolución de la viviparidad: Efecto de la lutectomía en el último tercio de la gestación en la lagartija vivípara Barisia imbricata imbricata. Tesis profesional. E. N. E. P. Iztacala U. N. A. M.

Heulin, B. (1990) Étude comparative de la membrane coquillière chez les souches ovipare et vivipare du lézard Lacerta vivipara. *Can J. Zool.*, **68**: 1015-1019.

Highfill, D. R. and R. A. Mead (1975a). Sources and levels of progesterone during pregnancy in the garter snake, Thamnophis elegans. *Gen. & Com. Endocrinol.*, **27**: 389-400.

Highfill, D. R. and R. A. Mead. (1975b). Function of corpora lutea of the pregnancy in the viviparous garter snake, Thamnophis elegans. *Gen. & Comp. Endocrinol.*, **27**: 401-407.

Hisaw, F. L. (1959). Endocrine adaptations of the mammalian oestrus cycle and gestation, pp. 533-552, en: Comparative Endocrinology. John Wiley and Sons, Inc., New York.

Hitz, R. (1983). Pflege und Nachzucht von Trachydosaurus rugosus Gray, 1827 im terrarium (Sauria : Scincidae). *Salamandra*, **19**: 198-210.

- Hoffman, L. H. (1970). Placentation in the garter snake, Thamnophis sirtalis. **J. Morphol.**, 131: 57-88.
- Hoffman, L. H. and F. B. P. Wooding (1993). Giant and binucleate cells in the trophoblast cells of mammals. **J. Exp. Zool.**, 266: 559-578.
- Hogart, P. J. (1976) Viviparity, en: Studies in Biology, No 75, pp1-68. Edward Arnold, London.
- Holzbauer, M. and H: M. Newport (1969). Adrenal secretion rates and adrenal tissue concentrations of pregnenolone, progesterone, 11  $\beta$ H-androstenedione and some other steroids in young pigs and dogs. **J. Physiol.**, 200: 821.
- Holzbauer, M.; H. M. Newport; M. K. Birmingham and H. Traikov (1969). Secretion of pregn-4-ene-3,20-dione (progesterone) **in vivo** by the adrenal gland of the rat. **Nature** 221: 572-573.
- Horner. J. R. and D. B. Weishampel (1988). A comparative embryological study of two ornithischian dinosaurs. **Nature.**, 332: 256-257.
- Horner, J. R. (1982). Evidence of colonial nesting and 'site fidelity' among ornithischian dinosaurs. **Nature**, 297: 675-676.
- Humason, G. L. (1972) Animal tissue techniques. Freeman and Com., San Francisco
- Ingerman, R. L. (1992). Maternal-fetal oxygen transfer in the lower vertebrates. **Amer. Zool.**, 32: 322-330.
- Jones, R. E. and Guillette, Jr. L. J. (1982). Hormonal control of oviposition and parturition in lizards. **Herpetologica**, 38: 80-93.
- Jones, R. E.; C. H. Summers and K. H. López (1983). Adrenergic inhibition of uterine contractions and oviposition in the lizard Anolis carolinensis. **Gen & Comp. Endocrinol.**, 51: 77-83.
- Jones, R. E.; K. H. Lopez; S. H. Summers, C. H. Austin (1987). Seasonal changes in the effects of the arginine vasotocin and stretch on Anolis uterine contraction in vitro. **J. Exp. Zool.**, 242: 233-239.

Jones, R. E. and C. D. Baxter (1991). Gestation, with emphasis on corpus luteum biology, placentation and parturition, pp. 205-301, en: *Vertebrate Endocrinology: Fundamental and Biomedical Implications*. P. K. T. Pang, M. A. Schreibam and R. Jones (Eds.) AP Inc. Harcourt Brace Jovanovich Publishers.

Kasturirangan, L. R. (1951a). The allanto-placenta of the sea snake Hydrophis cyanocinctus Daudin. *Zool. Soc. India*, 3: 277-279.

Kasturirangan, L. R. (1951b). Placentation in the sea-snake Enhydrina schistosa. *Proc. Indian. Acad. Sci. B*, 34:1-32.

Kaye, M. D.; W. R. Jones and D. T. Anderson (1972). Immunology and placentation in the viviparous invertebrates. *J. Reprod. & Fert.*, 31: 335-336.

Klebanoff, S. J.; E. C. Jong. and W. R. Henderson (1980). The eosinophil peroxidase: purification and biological properties; pp. 99-114, en; *The Eosinophil in Health and Disease*. A. F. Mahmoud; K. F. Austen and A. S. Simon (eds.) Grune & Stratton, London.

Klicka, J. and Mahmoud I. Y. (1977). The effect of hormones on the reproductive physiology of the painted turtle, Chrysemis picta. *Gen. & Comp. Endocrinol.* 31: 407-413.

La Pointe, J. L. (1964). Induction of oviposition in lizard with the hormone oxytocin. *Copeia*, 1964: 451-452.

La Pointe, J. L. (1977). Comparative physiology of neurohypophysial action on the vertebrate oviduct-uterus. *Amer. Zool.* 17: 763-763.

Lemus, D. and O. Badinez (1967). Placentación en Liolaemus gravenhosti. *Biológica*, 41: 55-68.

Lien, J. P. and I. P. Callard (1968). The effect of gonadectomy and hormonal therapy on reproduction and the reproductive tract of the ovoviviparous lizard, Sceloporus cyanogenys. *Va J. Sci*, 19: 179.

Lilligraven, J. A. (1979). *Mezozoic Mammals: The first two-thirds of mammalian history*. J. A. Lilligraven, Z. Kielan-Jaworoska & W. A. Clemens, (eds.). Berkeley: University of California Press.

Luckett, W. P. (1977a). Ontogeny of amniote fetal membranes and their application to phylogeny, pp 439-516, en: *Majorn Patterns in Vertebrate Evolution*. M. K. Hecht. P. G. Goody, and B. M. Heccht (eds.). New York, Plenum Press.

Luckett, W. P. (1977b). Placentation in the viviparous reptile, Chalcides chalcides. *Anat. Rec.*, **187**: 642.

Luna, G. L. (1968). *Manual of Histological Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. McGraw-Hill Book Co., 3<sup>a</sup> Ed.

Mahmoud, I. Y.; R. V. Cyrus; M. McAsey; C. Cady; M. Woller and D. L. Righth (1984). The effect of ovarian steroids and arginine vasotocin (AVT) on the contractility of the uterus in the snapping turtle (Chelydra serpentina). *Amer. Zool.*, **24**: 70A.

Martinez, T. M. (1985). Número y distribución de leucocitos eosinofilos en la implantación de la rata. 45 pp. Tesis Profesional, Esc. Nal. Est. Prof. Iztacala. U.N.A.M.

Matheus, L. H. (1955). The comparative physiology the reproduction and the effects of sex hormones in vertebrates. *Mem. Soc. Endocrinol.*, **4**: 129-144.

Medawar, P. B. (1953). Some immunological and endocrinological problems raised by the evolution of viviparity in vertebrates. *Symp. Soc Exp. Biol.* **7**: 320-338.

Mendéz, A. M. (1994). Efecto de la lutectomía y de la extirpación de los folículos atrésicos en la manutención de la gestación de Sceloporus mucronatus (Sauria- Phrynosomatidae) 70 pp. Tesis Profesional, Esc. Nal. Est. Prof. Iztacala, U.N.A.M.

Miller, M. R. (1948). The seasonal histological changes occurring in the ovary, corpus luteum and testis of the viviparous lizard Xantusia vigilis. *Univ. Calif. Publ. Zool.*, **47**: 197-223.

- Miller, W. D. (1988). Molecular biology of steroids hormone synthesis. **Endocr. Rev.**, 9: 295-318.
- Mingazzini, P. (1893) Corpoi lutei veri-e-falsi dei rettili. T. Lab. **Anat. Univ. Roy. Roma**, : 105-126.
- Mitchel, J. C. and Groves, J. D. (1993). Intraespeciphic oophagy in reptiles. **Herp. Rev.**, 24: 126-130.
- Moll, E. O. and Legler, J. M. (1971). The life story a neotropical slider turtle, Pseudemys scripta (Schepff) in Panama. **Bull. Los Angeles Mus. Nat. Hist. Sci.** 11; 1-102.
- Moore, J. A. (1988). Science as a way of knowing-developmental biology. **Amer. Zool.**, 27: 415-572.
- Mosmman,. H. W. (1937). Comparative morphogenesis of the fetal membranes and accesory uterine structures. **Carnegie Inst. Contrib. Embryol.**, 26: 129-246.
- Murray, R. K., P. A. Mayes, D. K. Grannery and V. W. Rodwell, (1989). Hormonas de las gónadas, pp 530-546,. en: Bioquímica de Harper. 11ª Ed, El Manual Moderno, México.
- Needham, J. (1959). A History of embriology. 2a edición, Abelard, Schuman, New York.
- Neil, W. T. (1974). Viviparity in Snakes: some ecological and zoogeographical considerations. **Am. Nat.**, 48: 35-55.
- Neill, W. T. and R. Allen (1962). Parturient anaconda, Eunectes gigas (Latreille), eating its own abortive eggs and foetal membranes. **Quart. J. Florida Acad. Sci.**, 25: 73-75.
- Nieuwkoop,. P. D. and L. A. Sutasuraya (1983). Some problems in the development and evolution of the chordates, pp. 123-135, en: Development and Evolution. B. C. Goodwin; N. Hoder and C. C. Wylie. (eds.), Cambridge U niversity Press.

Norman, D. B. (1988). Embryos in dinosaur nests. **Nature**, 332: 202-203.

Norman, D. B. (1988). A comparative embryological study of two ornithischian dinosaurs. **Nature**, 332: 202-203.

Ogren, H. and T. Frank (1994). The placenta as an endocrine organ; Polypeptides, pp. 875-945; en: *The Physiology of Reproduction*, 2a De., E. Knobil and J. D. Neil (eds.). Raven Press, Ltd New York.

Panigel, M. (1956). Contribution a l' etude de l'ovoviviparité chez les reptiles: gestation et parturition chez le lézard vivipare Lacerta vivipara. **Ann. Sci. Nat. Zool. Bio. Anim.**, 18: 569-668.

Packard, G. C. and M. J. Packard (1980). Evolution of the cleidoic egg among reptilian antecedent of birds. **Amer. Zool.**, 20: 351-362.

Packard, G. C.; C. R. Tracy and J. J. Roth (1977). The physiological ecology of reptilian eggs and embryos, and the evolution of viviparity within the class reptilia. **Biol. Rev.**, 52: 71-105.

Packard, G. C.; R. P. Elinson; J. Gabaud; L. J. Guillette, Jr.; J. Lombardini; J. Schindler; R. Shine; H. C. Tyndale-Byscoe; M. H. Wake; F. D. J. Xavier and Z. Yaron (1989). How are reproductive systems integrated and how has viviparity evolved?, pp. 281-294, en: *Complex Organismal Functions: Integration and Evolution in Vertebrates*. D. B. Wake and G. Roth (eds.). John Wiley & Sons, New York.

Parameswaran, K. N. (1962). The foetal membranes and placentation of Ehydria dussumieri (Smith). **Proc. Indian Acad. Sci. B.**, 56: 302-327.

Pijnenborg, R.; W. B. Robertson and I. Brosens (1985). Morphological aspects of placental ontogeny and phylogeny. **Placenta**, 6: 155-162.

Porter, D. G.; R. B. Heap. and A. P. F. Flint (1982). Endocrinology of the placenta and the evolution of viviparity. **J. Reprod. Fert., Suppl.**, 31: 113-138.

Rahn, H. (1940). Structure and function of placenta and corpus luteum in viviparous snakes. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, 40: 381-382.

Redshaw, M. (1972). The hormonal control of the amphibian ovary. **Amer. Zool.**, 12: 289-306.

Romer, A. (1966). Vertebrate paleontology; 3rd ed. Chicago, London, Univ. Chicago Press.

Roth, J. J.; R. E. Jones and A. Gerrard (1973). Corpora lutea and oviposition in the lizard Sceloporus undulatus. **Gen & Comp. Endocrinol.**, 21: 569-572-

Ruiz de Chávez, I.; W. R. Hohman and A. González-Angulo (1978). Simple technique for preparing one micron paraffin sections for routine histology **Patología**, 16: 21-25.

Saidapur, S. K. (1982). Structure and function of postovulatory follicles (corpora lutea) in the ovaries of non mammalian vertebrates. **Int. Rev. Cytol.**, 75: 243-285.

Samuel, N. (1944). Studies on the corpus luteum in Enhydrina schistosa (Daudin) and Hydrophis cyanocinctus (Daudin) of the Madras coast. **Proc. Indian Acad. Sci.**, 21: 143-174.

Sekharappa, B. M. and H. B. Devaraj-Sarkar (1978). Role of corpora lutea in the Skink Mabuya carinata. **Indian J. Exp. Biol.**, 16: 1097-1098.

Sergev, A. M. (1940). Recherches on the viviparity of reptiles. **Mosc. Soc. Nat.**, 1-35.

Shine, R. (1984). Physiological and ecological questions on the evolution of reptilian viviparity, pp. 147-153; en: *Respiration and Metabolism of Embryonic Vertebrates*. Seymour R. S. (ed.). Dr. Junk Publishers, Dordrecht/ Boston/ London.

Shine, R. (1985). The evolution of viviparity in reptiles: An Ecological Analysis, pp.605-604, en: *Biology of the Reptilia Vol 15*. C. Gans and F. Billet (eds.) Jhon Wiley and Sons, New York.

Shine, R. (1988). Parental care in reptiles; en: *Biology of the Reptilia*, Vol. 16. Ecology B. Defense and Life History, pp. 275-329. C. Gans and R. B. Huey (eds.), Alan R. Liss, Inc., New York.

Shine, R. (1995). A new hypothesis for the evolution of viviparity in reptiles. *Am. Nat.* **145**: 809-823.

Shine, R. and J. J. Bull (1979). The evolution of live-bearing in lizard and snakes. *Am. Nat.*, **113**: 905-923.

Shine R. and J. L. Guillette Jr. (1988). The evolution of viviparity in reptiles: a physiological model and its ecological consequences. *J. Theor. Biol.* **132**: 43-50.

Shuetz, A. W. (1990). Intrafollicular mechanisms regulating oocyte maturation, pp. 45-64, en: *Mechanism of Fertilization*. NATO ASI Series, Vol 45. B. Dale (ed.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Solomon, S. (1994) The primate placenta as an endocrine organ, pp. 863-874; en: *Physiology of Reproduction*. 2a De. E Knobil and J. D. Neil (eds). Raven Press Ltd, New York.

Stewart, J. R. (1985). Placentation in the lizard *Gerrhonotus coeruleus* with a comparison to the extraembryonic membranes of the oviparous *Gerrhonotus multicarinatus* (Sauria, Anguillidae). *J. Morphol.*, **185**: 101-114.

Stewart, J. R. (1990). Development of the extraembryonic membranes and histology of the placentae in *Virginia striatula* (Squamata: Serpentes). *J. Morphol.*, **205**: 33-43.

Stewart, J. R. (1992). Placental structure and nutritional provision to embryos in predominantly lecithotrophic viviparous reptiles. *Amer. Zool.*, **32**: 303-312.

Stewart, J. R. (1993). Yolk sac placentation in the reptiles: structural innovation in a fundamental vertebrate fetal nutritional system. *J. Exp. Zool.*, **266**: 431-449.

Stewart, J. R. and Blackburn D. G. (1988). Reptilian placentation: structural diversity and terminology. *Copeia*, **1988**: 839-852.

Studiati, C. (1851). Intorno alle connessioni del l'ovidutto nel Steps tridactylus. **Mem. Reale Accad. Sci. Torino II**, 15: 101-113.

Summers, C. H.; H. B. Austin and R. B. Jones (1985). Induction of oviposition in cycling Anolis carolinensis requires a  $\beta$ -adrenoreceptor blocker and a high dosage of arginine vasotocin. **Gen & Comp. Endocrinol.**, 57: 389-392.

Szarski, H. (1968). The origin of vertebrate foetal membranes. **Evolution**, 22: 211-214.

Tchernitchin, X.; A. Tchernitchin and P. Galand. (1976). Dynamics of eosinophils in the uterus after of oestrogen administration. **Differentiation**, 5: 151-154.

Thomas, R. A. and J. R. Dixon (1976). A re-evaluation of the Sceloporus scalaris group (Sauria, Iguanidae). **S. W. Natur.**, 20: 523-536.

Thomson, J. (1981a). A study of the sources of nutrients for embryonic development in a viviparous lizard Sphenomorphus quoyi. **Com. Biochem. Physiol.**, 70 A: 509-518.

Thompson, M. B. (1981b). Gas tensions in natural nests and eggs of the tortoise Tortoise macquarii. **Proc. Melbourne Herp. Symp.**, 17: 74-77.

Thompson, M. B. (1987). Water exchange in reptilian eggs. **Physiol. Zool.**, 60: 1-8.

Tinkle D. W. and J. W. Gibbons (1977). The distribution and evolution of the viviparity in reptiles. **Mus. Zool. Mich. Misc. Pub.**, 154: 1-55.

Tihen, J. A. (1960). Comments on the origin of the amniote egg. **Evolution**, 14: 528-531.

Tyndale-Byscoe, H and M. Renfre (1987). Reproductive Phsysiology of Marsupials, Cambridge , Univ. Press.

Uribe, M. C. A.; S.R. Velazco; L. J. Guillette, Jr. and E. F. Estrada (1988). Oviductal histology of the lizard, Ctenosaura pectinata. **Copeia**, 1988: 1035-1042.

van Bogaert, L. J. and P. Maldage (1979). Granulodytes in the endometrium of post-partum women. **J. Reprod. Fert.**, 57: 97-100.

van Tienhoven, A. (1968). Reproductive Physiology of the Vertebrates. W. B. Saunders, Philadelphia, pp 441.

Varma, S. K. and S. S. Guraya (1970). Morphology of ovarian changes in the garden lizard, Calotes versicolor. **J. Morphol.**, 131: 195-210.

Veith, W. J. (1974). Reproductive biology of Chamaleo pumilis with special reference to the role of the corpus luteum and progesterone. **Zool. Afric.**, 9: 161-183.

Villagrán, M. S. (1989). Desarrollo embrionario, placentación y su relación con el cuerpo luteo y la atresia folicular en Sceloporus mucronatus y Sceloporus grammicus, (Sauria: Iguanidae). Tesis Doctoral, Fac. de Ciencias, U.N.A.M.

Wake, M. (1992). Evolutionary scenarios, homology and convergence of structural specializations for vertebrate viviparity. **Amer. Zool.**, 32: 256-263.

Weekes, H. C. (1927). Placentation in reptiles other phenomena in the scincid lizard, Ligsoma (Hinulia) quoyi. **Poc. Linn. Soc. N. S. W.**, 52: 499-554.

Weekes, H. C. (1929). On placentation in reptiles I. **Proc Linn. Soc. N. S. W.**, 54: 34-60.

Weekes, H. C. (1930). On placentation in the reptiles II. **Proc Linn Soc. N. S. W.**, 55: 550-576

Weekes, H. C. (1935). A Review of placentation among reptiles, with particular regard to the function and evolution of the placenta. **Proc. Zool. Soc. Lond.**, 2: 625:645.

Weller, P. F., S. Y. Wasserman and. F. Austen (1980). Selected enzymes preferentially present in the eosinophil; en: The Eosinophil in health and

disease. A del A F. Mahmoud, K. F. Austen y A. S. Simon (eds.). Grune & Stratton. pp.115-130.

Whittier, J. M.; R. T. Mason and D. Crews (1987). Plasma steroid hormone levels of female red-sided garter snakes, Thamnophis sirtalis parietalis: relationship to mating and gestation. **Gen. Comp. Endocrinol.**, 67: 33-43.

Widzer, L. and Z. Yaron (1974). Effect of ovarian hormones on the genital tract of a viviparous lizard (Xantusia vigilis). **Isr. J. Zool.**, 23: 64-65.

Wimsatt, W. A. (1962). Some aspects of the comparative anatomy of the mammalian placenta. **Am. J. Obst. & Gynec.**, 11 Part 2: 1568-1594.

Wourms, J. P. (1981). Viviparity. The maternal-fetal relationship in fishes. **Amer. Zool.**, 21: 473-515.

Wourms, J. P. and I. P. Callard (1992). A retrospect symposium on evolution of viviparity in vertebrates. **Amer. Zool.** 32: 251-255.

Xavier, F. (1982). Progesterone in the viviparous lizard Lacerta vivipara ovarian biosynthesis, plasma levels and binding to transcortin type protein during the sexual cycle. **Hepetologica**, 38: 62-70.

Xavier, F. (1987). Functional morphology and regulation of the corpus luteum, pp. 241-181; en: Hormones and Reproduction in Fishes, Amphibians and Reptiles. D. O. Norris and R. E. Jones (eds.) Plenum Press.

Xavier, F.; A. Yvorra and E. Burzawa-Gerar (1989). Does concept influence corpus luteum life span during early pregnancy viviparous reptiles? **Gen & Comp. Endocrin.**, 74: 264.

Yaron, Z. (1971). Observations of the granulosa cells of Acanthobrama terraesanctae and Tilapia nilotica (teleostei). **Gen & Comp. Endocrinol.**, 17: 242-252.

Yaron, Z. (1972a). Effects of ovariectomy and steroid replacement on the genital tract of the viviparous lizard Xantusia vigilis. **J. Morph.**, 136, 313-326.

Yaron, Z. (1972b). Endocrine aspects of gestation in viviparous reptiles. **Gen. & Comp. Endocrin. Suppl.**, 3: 663-674.

Yaron, Z. (1985). Reptilian placentation and gestation: structure, function and endocrine control, pp. 528-603; en: *Biology of the Reptilia Vol 15*. C. Gans and F. Billett (eds.) Jhon Wiley and Sons, New York.

Zuckerman, L. and B. J. Weir (1977). *The Ovary. Vol. I*, Academic Press. 2a Ed. New York.

Zurich, L.; Y. Paz de la Vega-Lemus and D. Lemus (1971). Presence of adrenergic receptors in the uterus of two species of lizard, Liolaemus gravenhorti and Liolaemus tenuis tenuis. **Biol. Reprod.**, 5: 123-126.