

45
24



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**EFFECTO DE LA INMUNIZACION ACTIVA CON ZONA
PELUCIDA PORCINA EN EL OVARIO
DE PERRAS (canis familiaris)**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

P R E S E N T A

ELVIA GARCIA NAVARRETE

Director: MVZ. Jaime Orozco Vargas

Asesor: Biol. Héctor Serrano

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1995



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está 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.



45
29

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

**EFEECTO DE LA INMUNIZACION ACTIVA CON ZONA
PELUCIDA PORCINA EN EL OVARIO
DE PERRAS (canis familiaris)**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

P R E S E N T A

ELVIA GARCIA NAVARRETE

Director: MVZ. Jaime Orozco Vargas

Asesor: Biol. Héctor Serrano

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1995



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

FACULTAD
SUPERIOR

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el trabajo
"Efecto de la inmunización activa con zona
pelúcida porcina en el ovario de perras (*Tanís familiaris*)!!"

que presenta la pasante: Elvia García Navarrete
con número de cuenta: 8659890-9 para obtener el TITULO de:
Médica Veterinaria Zootecnista

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 30 de marzo de 1995

PRESIDENTE	<u>MVZ. Jaime Orozco Vargas</u>	<u>30-III-95</u>
VOCAL	<u>MVZ. Rodolfo Ibarrola Uribe</u>	<u>23-V-95</u>
SECRETARIO	<u>M. en C. Rosalba Soto González</u>	
1er. SUPLENTE	<u>MVZ. Miguel Angel Cornejo Cortés</u>	<u>19-V-95</u>
2do. SUPLENTE	<u>MVZ. Juan Ocampo López</u>	<u>24/4/95</u>

Agradezco al MVZ. Jaime Orozco por el tiempo dedicado
para que este trabajo se realizara.

Al Biol. Héctor Serrano por su valiosa colaboración
para la realización de este trabajo GRACIAS.

Agradezco al M.V.Z. Juan Ocampo por el tiempo dedicado
para este trabajo

INDICE

Resumen	1
Introducción	2
Objetivos	12
Hipótesis	13
Material y métodos	14
Resultados	19
Discusión	20
Conclusiones	21
Bibliografía	22

RESUMEN

Diez perras criollas de pesos diferentes de entre 2 y 4 años de edad, que se encontraban en proestro, se le aplico zona pelucida porcina (ZPP) en dosis de 25, 50, 100 y 150 microgramos; estas fueron ovariectomizadas 4 de ellas 25 días despues de la inmunizacion y 4 de ellas 40 días despues de la inmunizacion. Los ovarios fueron observados histologicamente encontrando que el numero de folículos descendio, se presentaron quistes foliculares infiltracion leucocitaria y desprendimiento folicular.

INTRODUCCION

En las grandes ciudades como la ciudad de México, el control de la población canina es de suma importancia, por el riesgo que corre la población de ser mordida y de contraer la rabia ya que los perros callejeros no son vacunados contra esta enfermedad. Además el fecalismo al aire libre de estos perros es un problema de salud. Esto ha llevado a que se realicen numerosos estudios y se practiquen varias alternativas. Los métodos convencionales de anticoncepción incluyen el uso de barreras químicas, administrando hormonas o métodos que previenen la implantación o la fertilización del huevo. Típicamente estos métodos tienen serias desventajas como efectividad incompleta y efectos secundarios indeseables. La aplicación de hormonas como la poligestona pueden traer reacciones como aumento de peso, endometritis, o gestación si la hembra está con el macho unos días después de la aplicación del progestágeno, y además se relaciona con la presentación de varias formas de cancer. Los métodos quirúrgicos son irreversibles y costosos, ya que se requiere de personal especializado para su realización.

En vista de los inconvenientes mencionados se hacen esfuerzos por prevenir la concepción por medio del sistema inmune.

La inoculación con zona pelúcida porcina (ZPP) es un método

promotor de inmunización; ésta es una glicoproteína que forma la matriz estructural que envuelve al ovocito y juega un papel muy importante en el proceso reproductivo. Su función primaria consiste en promover la unión del espermatozoide con su receptor en el ovocito, la prevención de la poliespermia posterior a la fertilización y la protección del embrión mientras es transportado hasta el sitio de la implantación (Sacco et al 1984).

El purificado de zona pelúcida es un eficiente inmunógeno, ya que produce altos niveles de anticuerpos específicos. Cuando las hembras son inmunizadas con zona pelúcida desarrollan anticuerpos de zona pelúcida y son capaces de prevenir la preñez. La zona pelúcida porcina se compone de tres o cuatro familias glicoprotéicas de las cuales una fracción, referida como ZP3, ha sido identificada como la que presenta los receptores para el reconocimiento y unión del espermatozoide (Sacco, 1984).

La inmunización con ZPP ha dado como resultados títulos altos de anticuerpos contra la zona e inhibición de la fertilidad en varias especies de laboratorio (conejas, perras, ratas, ratonas) y primates (mandril) (Tsunoda y Chang 1976; Gwatking et al 1977). En varios estudios, la inoculación con ZPP o purificado de ZP3, se acompañó de alteraciones de la función ovárica y los patrones endócrinos cíclicos, pero en la mayoría de los casos, la función

ovárica normal regresa después de un intervalo de varios ciclos (Kirkpatrick, *et al*).

Mahí-Brown (1985) realizó estudios en perras utilizando solubilizado crudo de ZPP (cZPP) y solubilizado purificado de ZPP (pZPP), probando la eficiencia de diferentes adyuvantes y la aplicación sin adyuvante. Las perras inmunizadas sin adyuvante tuvieron títulos de anticuerpos bajos, ciclos normales y permanecieron fértiles; la inmunización con cZPP y adyuvante produce títulos de anticuerpos antizonaes moderados o altos e infertilidad. Perras con altos títulos de anticuerpos tienen ciclos estrales anormales. Una de las perras inmunizadas con pZPP fue fértil, pero las otras fueron infértiles. La infertilidad en las perras inmunizadas con ZPP puede deberse a la obstrucción en la penetración de la zona pelúcida por los espermatozoides, ya que los ovocitos no pudieron ser fertilizados *in vitro*. Es posible que esta no sea la única causa de infertilidad ya que las perras presentan ciclos estrales aberrantes caracterizados por sangrados prolongados en el proestro y receptividad al macho (Henderson 1988).

El examen histológico preliminar de este autor, no revela cuerpo lúteo en ovarios de las perras inmunizadas con cZPP y con altos títulos de anticuerpos, ni tienen folículos preovulatorios (Henderson, 1988)

En un estudio histopatológico de ovarios de perras inmunizadas con zona pelúcida porcina, realizados por Mahi-Brown, lo que más se encontró fueron quistes foliculares. Todos los ovarios contenían folículos de primordial a terciario; no hubo folículos preovulatorios, folículos ovulados o cuerpos lúteos visibles. Todas las perras fueron infértiles por lo menos por un ciclo posterior a la inmunización (Mahi-Brown et al. 1984).

En estudios histopatológicos realizadas en ovarios de perras inmunizadas con ZPP, además de encontrar quistes ováricos, dos perras inmunizadas con zona pelúcida cruda solo presentaron ovocitos en los folículos primordiales (Henderson 1988).

Los ciclos estrales anormales en las perras inmunizadas con ZPP aparecen como resultado de la disgénesis folicular o la formación de quistes, pero la etiología de esta condición no se conoce (Mahi-Brown et al. 1988).

Un estudio histológico realizado con conejas demuestra que el número de folículos primarios, secundarios y terciarios en los ovarios de animales inmunizados con ZPP son marcadamente reducidos comparados con los animales control. En la semana 23 post inoculación, sólo unos pocos folículos desarrollados estuvieron presentes, pero no contienen ovocitos. Estos estudios sugieren que los anticuerpos dirigidos contra las glicoproteínas de ZPP alteran la función ovárica por interferencia con las células durante la fase de diferenciación celular (Skinner, 1984).

Diez mandriles hembras inmunizadas con ZP3 mostraron concentraciones reducidas de estrógenos en plasma y números reducidos de folículos antrales; dos de estos animales no ovularon, y cinco se hicieron amenorreicas por ocho meses después de la inoculación (Dumbar et al. 1989).

En estudios realizados con 10 yeguas salvajes de vida libre, inoculadas con ZPP antes de la estación de cría por tres años con tres aplicaciones anuales (88-90), la función ovárica fue evaluada en 7 de estas yeguas, mientras que 20 yeguas control fueron servidas y monitoreada la función ovárica en 4 de ellas por medio de estrógenos conjugados en orina y metabolitos no específicos de progesterona. Ninguna de las 10 yeguas inoculadas gestaron comparadas con el 55% de las 20 yeguas control. 2 de las 7 yeguas monitoreadas tratadas con ZPP demostraron ciclos ovulatorios que no resultaron en gestación, una se cargó en 1989 y presentó gestación y perfil endócrino normal, las 4 yeguas restantes tratadas no revelaron evidencia de ovulación y los niveles estrogénicos en orina tuvieron un ligero decremento. Esto indica que tres inoculaciones al año son efectivas en mas del 90% de los casos en la anticoncepción en yeguas (Kirkpatrick., 1992).

HISTOLOGIA DEL OVARIO

El ovario está constituido por una médula y una corteza y está rodeado por un epitelio simple cuboide que recibe el nombre de mesovario (mesotelio cuboide) (Junqueira, 1990; Hafez, 1987).

La médula está constituida por tejido conectivo colágeno compacto irregular, un plexo nervioso abundante y un sistema de vasos sanguíneos que penetran al ovario por el hilio (adhesión entre ovario y mesovario) (Junqueira 1990). La corteza contiene los folículos ováricos en todos sus estadios de desarrollo. Además es un sitio muy importante para la producción hormonal; segrega estrógenos que se producen principalmente por las células epitelioideas de la teca interna de los folículos maduros, y la progesterona por las células luteínicas grandes durante el metaestro, diestro y gestación. Los estrógenos inducen el crecimiento y desarrollo del tracto reproductor femenino y el comportamiento durante el estro. La progesterona estimula el desarrollo de las glándulas uterinas, las induce a la secreción y prepara al endometrio para recibir al cigoto. Impide la maduración folicular y el estro (Dellmann 1978).

En la corteza ovárica se pueden encontrar estructuras como: folículos primordiales, primarios, secundarios, terciarios, cuerpos hemorrágicos, cuerpos lúteos y cuerpos blancos (Hafez

1987; Junqueira 1990; Niswender 1987).

En los quistes el huevo está ausente. La membrana granulosa está atrofiada (por presión), y está representada por una capa de células delgadas las cuales rodean la pared interior del quiste. Algunas veces esta capa desaparece completamente (Runnels, 1982).

El ovario de la perra está cubierto por una bolsa ovárica, que es un pliegue del mesovario; éste, a su vez está unido al ligamento suspensorio del ovario. El ovario está totalmente cubierto por la bolsa ovárica; solo en la parte ventral tiene un orificio que comunica el interior de la bolsa con la cavidad peritoneal (Alexander, 1986).

CRECIMIENTO Y MADURACION FOLICULAR

La maduración folicular consiste en la transformación del folículo primordial en folículo terciario (Banks, 1986). Estos eventos se inician en el embrión, cuando las células germinales primordiales se originan en la porción caudo-dorsal del saco vitelino, desde donde viajan por el intestino primitivo, atraviesan por el mesonefros y llegan a la gónada primitiva. Ya en las gónadas primitivas éstas se multiplican

por mitosis hasta completar el número de células germinales que va a tener la hembra durante toda su vida reproductiva. Después estas células se diferencian a ovocitos primarios los cuales son rodeados por una capa de células que se originan de la corteza ovárica (Banks, 1986).

Los ovocitos primarios con la envoltura de células escamosas forman lo que se conoce como *foliculos primordiales*, los cuales quedan integrados desde la etapa fetal. El crecimiento folicular empieza por un aumento del tamaño del ovocito y cambios en las células que lo rodean de forma escamosa a cuboide, llamándose ahora *foliculos primarios* (Hafez, 1987; Banks, 1986).

Posteriormente la capa de células cuboides inicia una serie de cambios mitóticos y se forma una túnica estratificada a la que se le conoce como capa granulosa, además entre éstas y la membrana del ovocito se forma la zona pelúcida, material de naturaleza glicoproteica, que corresponde tanto al glucocáliz del ovocito como a material producido por las prolongaciones de las células más internas de la capa granulosa que rodea directamente al ovocito, mediante las cuales también lo van alimentando (Banks, 1986).

Simultáneamente el tejido conectivo de la corteza ovárica que rodea el folículo es invadido por capilares sanguíneos formándose una capa fibrosa vascularizada denominada teca interna. Esta a su

vez es rodeada por los fibroblastocitos que constituyen una capa externa llamada teca externa; ambas tecas quedan separadas por una membrana basal de la granulosa avascular que rodea la cavidad folicular, a toda esta estructura en conjunto se le denomina *foliculo secundario* (Banks 1986; Hafez 1987; Junqueira 1990).

El crecimiento y maduración de los folículos ováricos y su secreción estrogénica se hallan controlados por la secreción de las hormonas foliculo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH). Aunque éstas no afectan significativamente el desarrollo de los folículos primarios y secundarios, para la maduración de los folículos terciarios y para que lleven a cabo su actividad secretora de estrógenos se requieren cantidades abundantes de FSH y escasas de LH. La secreción de estrógenos estimula la liberación principalmente de LH y un poco de FSH que inducen la ovulación. La formación de cuerpo lúteo se inicia por estímulo de la LH hipofisiaria (Dellmann, 1978).

Posteriormente por acción de las gonadotropinas, las células de la granulosa inician su actividad secretora (progesterona, testosterona) depositándose estas secreciones entre ellas y provocando grietas en la granulosa; además hay invasión de líquidos que se extravasan de los capilares de la teca interna; en la medida que este líquido o licor folicular se incrementa

cavidad llamada *antro folicular*; el ovocito rodeado de algunas células de la granulosa queda desplazado hacia un extremo, unido a la pared interna del folículo únicamente por un grupo de células de la granulosa denominadas *cúmulo ouigero* (Dellmann, 1975; Banks, 1986).

En las etapas iniciales de estos cambios a estas estructuras se les denomina *folículo secundario en desarrollo* o *folículo vesicular* o *preantral*, y al terminar dichos cambios, se le conoce como *folículo terciario*, cuando este folículo terciario termina su desarrollo y está listo para la ovulación se le conoce como *folículo maduro*.

Como consecuencia de que únicamente un pequeño porcentaje de ovocitos potenciales se liberan del ovario por ovulación, muchos folículos experimentan regresión en algún momento de su desarrollo. Esta regresión recibe el nombre de *atresia* y son mucho más los folículos que se hacen *atrésicos* que los que maduran (Dellmann, 1976).

TABLA I. EFECTO DE LA INMUNIZACION ACTIVA CON ZONA PELUCIDA PORCINA EN PERRAS.

ESPECIE	ANTIGENO	OBSERVACIONES	REFERENCIA
Perras	Solubilizado purificado de zona pelúcida porcina (pZPP).	Infertilidad, ciclos estrales anormales con sangrados prolongados en el proestro, no hay cuerpos lúteos ni folículos preovulatorios.	Henderson (1988).
Perras	Solubilizado crudo de zona pelúcida porcina (cZPP).	Produce altos o moderados títulos de anticuerpos antizonales,	Mahi-Brown (1985).
Perras	Zona pelúcida porcina.	Histopatología: quistes foliculares, no hubo folículos preovulatorios ni folículos ovulados o cuerpos lúteos visibles. Infertilidad.	Mahi-Brown (1984).
Perras	Zona pelúcida porcina.	Ciclos estrales anormales, disgenésis folicular, quistes foliculares.	Mahi-Brown (1988).

TABLA II. EFECTO DE LA INMUNIZACION ACTIVA CON ZONA PELUCIDA PORCINA EN DIFERENTES ESPECIES.

ESPECIE	ANTIGENO	OBSERVACIONES	REFERENCIA
Yeguas	Zona pelúcida porcina	Yeguas libres con presencia de semental no gestaron hasta un año posterior a la aplicación de zona pelúcida porcina.	Kirkpatrick (1992).
Conejas	Zona pelúcida porcina	Número de folículos primarios, secundarios y terciarios marcadamente reducidos.	Skinner (1984).
Mandriles	Zona pelúcida porcina	Baja concentración de estrógenos en plasma, bajo número de folículos secundarios, amenorrea por ocho meses después de la inoculación.	Dunbar (1989).
Macacos	Zona pelúcida porcina	Ciclos anormales con periodos anovulatorios y bajos niveles de progesterona.	Mahf-Brown (1992).

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Determinar las lesiones inducidas en el ovario de perras en respuesta a la inmunización activa con zona pelúcida porcina.

OBJETIVOS PARTICULARES:

Determinar las alteraciones histológicas inducidas en el ovario por diferentes dosis de zona pelúcida porcina.

Correlacionar las alteraciones presentes con el posible efecto en el desarrollo folicular.

Determinar el efecto de la zona pelúcida porcina en la infiltración linfocitaria de folículos ováricos.

HIPOTESIS

La zona pelúcida porcina altera el desarrollo folicular, induce la infiltración de leucocitos en el ovario de perras inmunizadas activamente, y estos efectos pueden darse dependiendo de la dosis aplicada.

MATERIALES Y METODOS

A) MATERIALES

a) Aparatos:

Histokinette

Microtomo

Platina térmica

Baño de flotación de tejidos

Microscopio compuesto de campo claro

Computadora (programa Lotus 1-2-3 versión 2.0)

b) Cristalería:

Frascos de cristal con tapa para recolección de muestras

Cubreobjetos

Portaobjetos

c) Instrumental de cirugía general (Alexander 1988)

d) Reactivos:

1) Colorantes: Hematoxilina de Harris. Eosina alcohólica (Estrada 1982).

2) Fijación: Formol al 10%.

3) Fármacos: Pentobarbital sódico
Clorhidrato de propiomazina

e) Material biológico:

10 perras criollas se 2 a 4 años de edad

Zona pelúcida porcina obtenida en el laboratorio de Biología Celular y Molecular de la Fertilidad, de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa.

B) METODOS

Se usaron diez perras criollas escogidas al azar, de diferentes pesos y entre 2 y 4 años de edad las cuales se encontraban en proestro, formándose cuatro grupos de dos perras cada uno, a los cuales se les aplicaron por vía intramuscular diferentes dosis de zona pelúcida porcina, contando además con un grupo control.

La zona pelúcida porcina se aisló de ovocitos foliculares de acuerdo al método de Dunbar et al (1980): Los ovarios de cerda obtenidos del rastro se maceran en un procesador de alimentos en solución amortiguada de citrato PBS-EDTA. El macerado se tamizó a través de mallas de nylon de tamaño de poro en orden descendiente 1000 μm , 500 μm , 250 μm , 125 μm y 54 μm . De esta última se obtuvieron ovocitos íntegros que se disgregaron agitando 60 min. en agua desionizada. Los "fantasmas" de ZPP se disolvieron en amortiguador de carbonatos a 60 grados centígrados por 60 minutos.

Se dosificó de la siguiente manera:

Lote 1: 150 μg a cada perra (1.5 ml)

Lote 2: 100 μg a cada perra (1.0 ml)

Lote 3: 50 μg a cada perra (0.5 ml)

Lote 4: 25 μg a cada perra (0.5 ml)

Lote 5: lote testigo

Las perras se ovariectomizaron una de cada lote 25 días después de la inmunización, y una perra de cada lote, 40 días después de la inmunización.

Las ariectomías se realizaron según la técnica descrita por Alexander (1986). Las perras se tranquilizaron utilizando clorhidrato de propiomazina a dosis de 1 mg/kg intramuscular (Combelen, Bayer), 15 minutos después de la tranquilización se anestesiaron utilizando pentobarbital sódico a dosis de 20 mg/kg por vía intravenosa (Anestesal, Smith-Kline) una vez anestesiado se rasuró la región abdominal media y caudal y hace antisépsia en ésta.

Se procede a incidir en la línea media a partir de la cicatriz umbilical en dirección caudal aproximadamente 3 cm. de longitud incidiendo piel, tej. conectivo, músculo y mesenterio, una vez dentro de la cavidad abdominal se procede a localizar los ovarios, ya localizados se sujetan, se liga el paquete, se corta y se verifica que la hemostasis sea total. Una vez obtenidos ambos ovarios se procede a suturar por planos.

Los ovarios fueron transportados al laboratorio de Histología de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán en solución de formol al 10%.

Se procesaron histológicamente los ovarios utilizando la técnica de inclusión en parafina (Estrada, 1982).

A cada ovario se le hicieron dos cortes transversales quedando así dividido en tres porciones, de cada una de las partes se obtuvieron con el microtomo tres cortes seriados de tres micrómetros de grosor y seriados, estos cortes se realizaron en el microtomo. Se montaron varios cortes en cada portaobjetos, identificando las laminillas con un número progresivo.

Las lecturas fueron registradas clasificando a los folículos de acuerdo a sus características de desarrollo en primarios, secundarios y terciarios, además se identificaron los folículos atrésicos, desprendidos e infiltrados, así como los quistes ováricos. Para registrar las lecturas se revisaron los cortes montados en la serie de tres laminillas, de las cuales, se escogió sólo una y de esta sólo uno de los cortes para el registro de resultados, tomando en cuenta la que estuviera en mejores condiciones tanto de corte como de tinción.

Para la comparación de las estructuras encontradas en los ovarios testigos y experimentales los datos obtenidos en cuanto al número folicular se sometieron a la prueba estadística t de Student (Schaums, 1986) lo cual fue realizado en una computadora personal utilizando el programa de Lotus 1-2-3 versión 2.0.

RESULTADOS

En los ovarios obtenidos de los animales a los que se les aplicó 50 μg de zona pelúcida y ovariectomizadas a los 25 días después de la aplicación de la zona pelúcida, se encontró un descenso en el número de folículos primarios secundarios y terciarios (Cuadro 1), y con respecto a las perras ovariectomizadas 40 días después de la inmunización el descenso fue mayor en los animales que recibieron 25 μg (Cuadro 2)

Las alteraciones que se encontraron fueron quistes foliculares en todos los ovarios en estudio (fig. 1), siendo de mayor tamaño en los ovarios de las perras que recibieron 150 μg

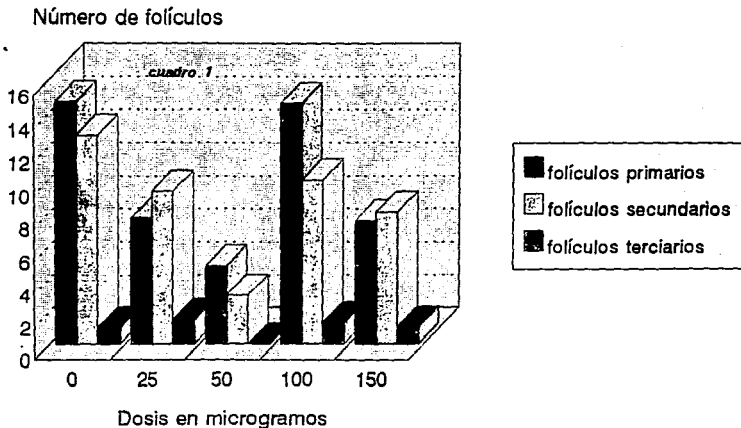
Asimismo, el desprendimiento folicular (fig. 2) se encontró con mayor incidencia en las perras que recibieron la dosis mayor, descendiendo conforme disminuyó la dosis.

La infiltración leucocitaria fue mayor en los ovarios obtenidos 25 días después de la inmunización, independientemente de las dosis aplicadas (fig 3).

Los folículos atrésicos igualmente se encontraron en mayor número en los ovarios cuyos animales recibieron 25 μg (Cuadro 3).

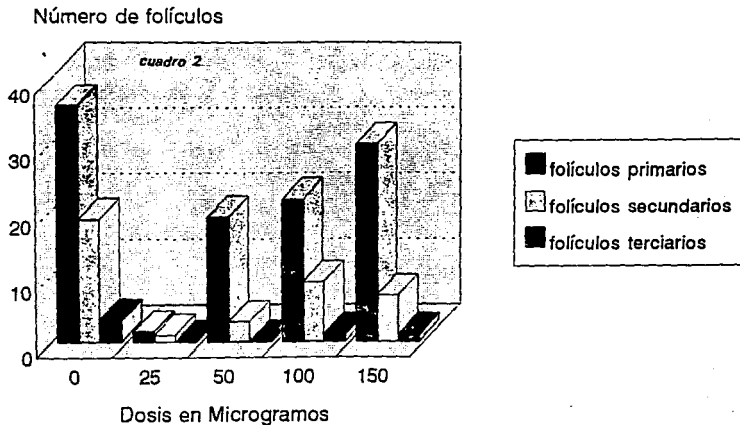
RESULTADOS DE LA INMUNIZACION EN PERRAS CON ZPP

25 DIAS POSTERIORES A LA INMUNIZACION



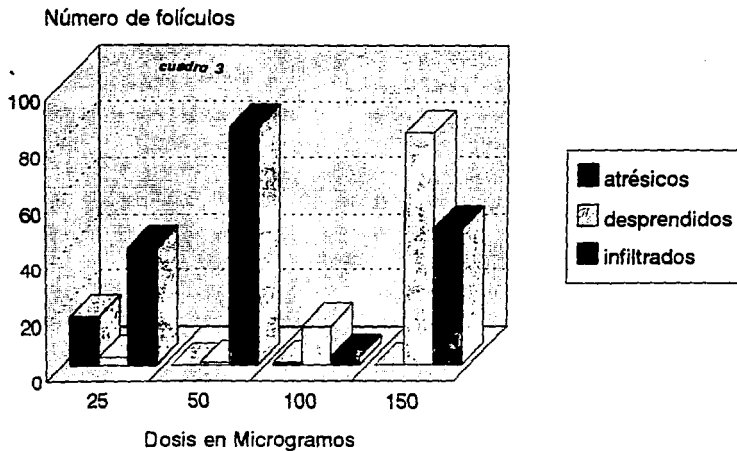
ZPP: zona pelúcida porcina.

RESULTADOS DE LA INMUNIZACION EN PERRAS CON ZPP 40 DIAS POSTERIORES A LA INMUNIZACION



ZPP: zona pelúcida porcina.

ALTERACIONES INDUCIDAS EN RESPUESTA A LA INOCULACION CON ZPP



ZPP: zona pelúcida porcina.

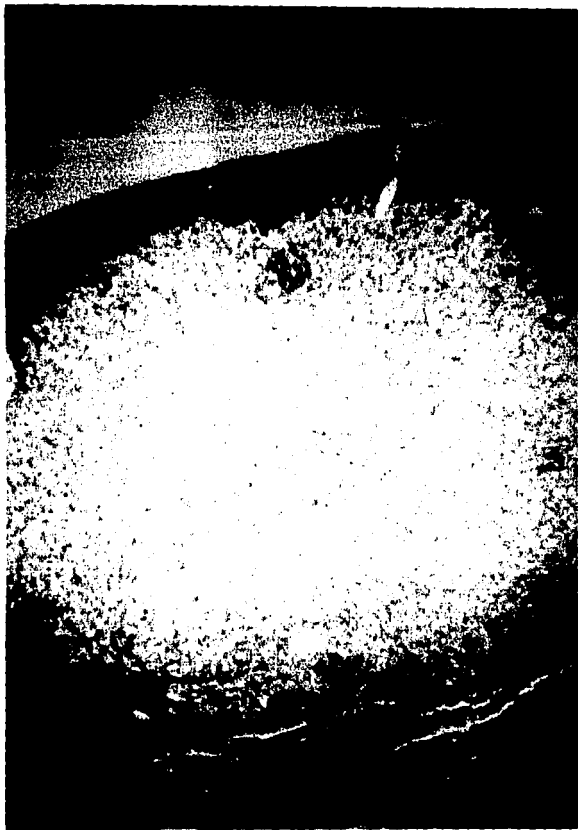


Figura 1. Quiste foliular encontrado en los ovarios tratados con zona pulvada porcina 125X.



Figura 2. Desprendimiento foliular encontrado con mayor incidencia en las perlas que se les aplico la dosis mayor, descendiendo conforme disminuyo la dosis. 45X



Figura 3. Infestación por *Leishmania* que fue mayor en los casos de abismo, 25 días después de la inoculación, independientemente de la dosis aplicada. 125X.

FOTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

DISCUSION

Los resultados encontrados en las perras tratadas, son similares a los descritos por Mahi-Brown (1984) y Henderson (1988), en donde reportan quistes foliculares, descenso en el número de folículos primarios, secundarios y terciarios. Así como los estudios histológicos realizados en conejas por Skinner (1984), donde reporta bajo número de folículos en los animales tratados en comparación con los animales control.

En el cuadro 1 podemos ver que existe un aumento en el número de folículos primarios, debido probablemente a la no progresión hacia folículos secundarios. Esto implica una destrucción de ovocitos cuando se inicia la estructuración de zona pelúcida, con dosis de 50 a 100 μg por animal.

En ambas dosis se mantiene la disminución del porcentaje de folículos terciarios como ocurriría normalmente en los animales no tratados. En una dosis de 50 μg incluso no se encontraron folículos terciarios.

En dosis de 150 μg , aparentemente pueden haber dos procesos que hacen ineficiente la inmunización, la inducción de inmunotolerancia al haber un exceso de antígeno, de tal manera que las células del sistema inmune lo reconocen como propio o la formación de anticuerpos que neutralizan a los anticuerpos anti-zona pelúcida.

CONCLUSIONES

Los ovarios obtenidos de los animales inmunizados con zona pelúcida porcina demostraron:

1) Descenso de folículos primarios secundarios y terciarios, siendo mayor en los animales que recibieron 25 μ g y 50 μ g.

2) Las alteraciones encontradas con mayor frecuencia fueron quistes foliculares, desprendimiento folicular, infiltración leucocitaria y folículos atresicos.

sin embargo, se recomienda que se sigan estudios posteriores para poder determinar la presencia de anti-anticuerpos, de células T supresoras, la variación entre diferentes razas, y además determinar la dosis adecuada de acuerdo al peso del animal a tratar.

BIBLIOGRAFIA

ALEXANDER H. A.: Técnicas quirúrgicas en animales y temas de terapéutica quirúrgica., 6a edición. *Interamericana*, México, 1986.

BANKS J. William.: *Histología Veterinaria Aplicada*, 1a edición. *Manual Moderno*, México, 1986.

DELLMANN; Horst-Dieter; Brown M. Esther.: *Histología Veterinaria*, 1a ed. Acribia, Zaragoza, 1976.

DUMBAR B.S; Wardrip, N.J; & Hedrick, J.L.: Isolation, physicochemical properties, and macromolecular composition of zona pellucida from porcine oocytes. *Biochemistry*, 19,2: 356-365 (1980).

ESTRADA FLORES ELVIRA, Peralta Zamora L. Rivas Manzano P.: *Manual de técnicas Histológicas*. ARG.EDITOR, México (1982) 63.

HAFEZ. E.S.E., Reproducción e inseminación artificial en animales. 5a. ed. *Interamericana*, México (1987) 41-43; 73.

HENDERSON, C.J., Huime, M.J., and Aitken, R.J.: Contraceptive potential of antibodies to zonae pellucida. *J. Reprod. Fert.*, 83: 325-343 (1988)

JUNQUEIRA L.C.; Carreiro J.: *Histología Básica*. 3a ed. Salvat., México (1990) 472-478

MAHI-BROWN, C.A., Hung, T.T.F., Jr and Yanagimachi, R.: Infertility in bitches induced by active immunization with porcine zonae pellucidae. *J. Exp. Zool.*, 222: 89-95 (1982)

- MAHI-BROWN, C.A., Yanagimachi, R., Hoffman, J.C. & Hung, T.T.F.: Fertility control in the bitch by active immunization with porcine zona pellucida: use of different adjuvants and patterns of estradiol and progesterone levels in estrus cycles. *Biol. Reprod.*, 32: 761-772 (1988).
- MAHI-BROWN, C. A.; M.L. Nelson & R. Yanagimachi.: Aberrant ovarian histology of bitches immunized with porcine zona pellucida. *Biol. Reprod.*, 30 (suppl. 1): 105 (1984).
- MAHI-BROWN, C.A.; Yanagimachi, R.; Nelson, M.L.; Yanagimachi, H.; Palumbo, N.: Ovarian histopathology of bitches immunized with porcine zonae pellucidae. *American Journal of reproductive immunology and microbiology.*, 18:3, 94-103 (1988).
- MAHI-BROWN, C.A., Ryan, P.; McGuinness & Francisco Moran.: The cellular response to immunization with zona pellucida antigens. *Journal of reproductive immunology*, 21: 29-46 (1992).
- KEENAN, J.A.; Sacco A.G.; Subramanian M.G.; Kruger, H.; Yucrewics, E.C. & Mohissi, K.S.: Endocrine response in rabbits immunized with native versus deglycosylated porcine zona pellucida antigens. *Biology Reproduction.*, 44: 150-156 (1991).
- KIRKPATRICK, J.F., M.K. Liu. and Keiper, R.: Long-term effects of porcine zonae pellucidae immunocontraception on ovarian function in feral horses (*Equus caballus*). *J. Reprod. Fert.*, 94: 437-444 (1992).

NISWENDER, G.D.: Reproduction in domestic ruminants. 3a. edición. *Manual Moderno.*, (1987).

RUNNELS, A. RUSSELL.; Principios de Patología Veterinaria. 1a. ed., México (1982) 630-631.

SARAH, E; Millar; Steven, M; Chamos; Anne, W. Baur; Oliver Constance; Robey Frank; Dean Jurrien.: Vaccination with a synthetic zona pellucida peptide produces long-term contraception in female mice. *Science.*, 246: 935-937 (1989).

SKINNER, S.M., Mills, T., Kirchick, H.J. & Dunbar, B.S.: Immunization with zona pellucida proteins results in abnormal ovarian follicular differentiation and inhibition of gonadotropin-induced steroid secretion. *Endocrinology.*, 115, 2418-2432 (1984)