



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**Variación en la distribución de linfocitos intraepiteliales y de la lámina propia
en tubas uterinas de cerdas nulíparas tratadas con diversas dosis de
gonadotropinas no hipofisarias (eCG y hCG).**

TESIS

Que para obtener el título de

Médico Veterinario Zootecnista

PRESENTA

Paulo Martín Barajas Oliva

Asesores:

Dr. Santiago René Anzaldúa Arce

MVZ Héctor Villaseñor Gaona

Dr. Miguel Ángel Cornejo Cortés

Ciudad Universitaria, Cd. Mx.

2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a la vida en sí, que me presentó cada circunstancia y momento en todas sus facetas otorgándome toda la experiencia forjando a la persona que soy al día de hoy.

También esta tesis va dedicada a mi madre y a mi hermano mayor, seres tan diferentes y dedicados, quienes me enseñaron que tener pasión y vocación es fundamental en la vida profesional. Gracias por escucharme las pocas veces que he externado mis sentimientos y pesares. De verdad, muchas gracias.

AGRADECIMIENTOS

Gracias al Dr. Santiago Anzaldúa, por ayudarme en este objetivo y espero que en un futuro volvamos a trabajar juntos. Agradezco todo el apoyo de la Dra. María Elena Trujillo, por el apoyo académico que siempre ha tenido conmigo.

De verdad, gracias al Dr. Óscar Gutiérrez, al Dr. Miguel González y demás académicos que me ayudaron con la recepción de muestras en el CEIEPP y procesamiento.

Gracias a cada una de las personas que me apoyaron en este proyecto, son tantas que no cabrían en este apartado, pero con mis acciones y mi forma de ser con ellas saben quiénes son, no tengo porque exponer esas actitudes que tengo hacia ellos. Me conocen y yo los trato como lo mejor de mi existencia por ser especiales, importantes y, sobre todo, relevantes en mi vida profesional, académica y personal.

CONTENIDO

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
MATERIAL Y MÉTODOS	10
RESULTADOS	14
DISCUSIÓN	16
REFERENCIAS	29
GRÁFICAS Y FIGURAS	33

RESUMEN

En este trabajo se determinó la migración linfocitaria dentro de la tuba uterina (TU): ámpula (AMP), unión istmo-ampular (UIA) e istmo (IST), al aplicar gonadotropinas no hipofisarias en comparación con el Grupo 1 (control), Grupo 2 (PG600): 400 UI de eCG y 200 UI de hCG al día 17 del ciclo estral, y Grupo 3 (M/M): 1,000 UI de eCG al día 17 y 1,000 UI de hCG al día 19 del ciclo estral. Se utilizaron 12 hembras para los 3 grupos ($n = 4$). Las muestras se fijaron al momento del estro (día 21 del ciclo estral), previa eutanasia de las cerdas, en paraformaldehído al 4% y procesando las TU por inclusión en parafina. Los cortes histológicos se tiñeron en H-E para cuantificar los linfocitos intraepiteliales (LIE) y de la lámina propia (LLP) por medio de una retícula micrométrica ocular. Se observó una disminución significativa ($P < 0.05$) en el promedio de LIE del grupo 3 en el AMP y la UIA comparados con los otros dos grupos y el IST del grupo 3 mostró disminución significativa comparado con el grupo 2. En los LLP, se presentó una disminución significativa en la UIA del grupo 3 comprado con el grupo 2. En cuanto a los linfocitos totales (LT), el grupo 3 mostró disminuciones significativas en las tres regiones en comparación con los otros grupos, excepto en el IST que presentó disminución significativa comparado con el grupo 2. La aplicación de eCG y hCG provocaron variaciones en las poblaciones de linfocitos estudiados.

INTRODUCCIÓN

En la práctica veterinaria, la aplicación de gonadotropinas no hipofisarias exógenas se utilizan para inducir la sincronización y superovulación de hembras con la finalidad de producir y colectar un mayor número de ovocitos y embriones en hembras. El uso de eCG (gonadotropina coriónica equina) y hCG (gonadotropina coriónica humana), simultáneamente, es una de las combinaciones más utilizadas en México. Existen diferentes presentaciones, como el PG600®, la cual corresponde a 400 y 200 UI, o bien 500 y 300 UI respectivamente, comúnmente utilizado para inducir el crecimiento folicular y la ovulación (Trujillo, et al, 2004). La eCG presenta actividad parecida a la hormona folículo-estimulante (FSH), ayudando al crecimiento folicular, de este modo incrementando los niveles de estradiol que inician el estro, mientras que la hCG presenta actividad parecida a la hormona luteinizante (LH), induciendo la ovulación. Ambas hormonas son usadas en combinación para sincronizar la foliculogénesis ovárica al igual que el momento de la ovulación, como PG600®, que es efectivo para inducir estros fértiles en hembras prepúberes (Juárez-Mosqueda, et al, 2014), entre otras. La aplicación de estas gonadotropinas es intramuscular (IM) (Trujillo, et al, 2004), y también se ha demostrado que pueden ser aplicadas vía subcutánea (SC) (Manjarin, et al, 2009), posterior al día 15 del ciclo estral. Existen en el mercado de forma independiente y se emplean a razón de 2,500 UI, como dosis única (Trujillo, ME., et al, 2004).

- a) Anatomía e histología de la tuba uterina de la cerda.

La tuba uterina (TU) en la cerda es una estructura enroscada que se compone por cinco regiones: infundíbulo, ámpula (AMP), unión istmo-ampular (UIA), istmo (IST) y la unión útero-tubárica (Juárez-Mosqueda, et al, 2014). Las fimbrias forman parte del infundíbulo, porción adyacente al ovario, que captan a los óvulos, y son predominantes tanto en el infundíbulo como en el AMP (porción craneal de la TU) que ayudan al movimiento del óvulo, destacando que la ciliogénesis (cilios) se presenta en respuesta a concentraciones circulantes de estrógenos (Banks, 1996); la UIA es el sitio donde se lleva a cabo la fertilización de gametos (Anzaldúa, et al, 2008) y se presentan células secretoras no ciliadas que pueden nutrir al óvulo y también ayudan al espermatozoide para la fertilización (Banks, 1996); y el IST es la región adyacente al útero donde ocurre la capacitación espermática y sirve como almacenamiento temporal de espermatozoides (Anzaldúa, et al, 2008). La mucosa de la TU en la cerda puede estar constituida por un tejido epitelial de revestimiento cilíndrico simple ciliado y pseudoestratificado, presentando muchos pliegues en el AMP. La lámina propia-submucosa está constituida por tejido conjuntivo ordinario laxo areolar y carece de glándulas. La túnica muscular se encuentra dispuesta en haces: circular y longitudinal, y está mejor desarrollada en el IST en relación con el AMP. La túnica serosa es típica y posee muchos vasos sanguíneos (Banks, 1996).

b) Ciclo estral de la cerda.

La cerda es poliéstrica de ovulación múltiple y espontánea, con celos a lo largo de todo el año, salvo en preñez y lactancia. Su ciclo estral dura en promedio 21 días y puede repetirse siempre que no exista gestación, lactación o presencia de alguna patología. Comprende cuatro etapas: metaestro, diestro, proestro y estro. El

metaestro dura 2 días aproximadamente caracterizándose por la presencia de cuerpos hemorrágicos, a partir de los cuales se forman los cuerpos lúteos. El diestro dura en promedio 14 días; durante este lapso, bajo la influencia de la hormona luteinizante (LH), el cuerpo lúteo se reorganiza hasta alcanzar su máximo desarrollo permaneciendo funcional hasta el final de la gestación; al igual, las concentraciones de progesterona llegan a su máximo nivel. Si no existe la concepción, el cuerpo lúteo se destruye al final del diestro por la acción de la prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) de origen uterino. El proestro dura de 2 a 3 días, aquí se lleva a cabo el crecimiento y la maduración folicular. Durante la proliferación folicular, existe un proceso continuo de crecimiento y atresia dentro de un grupo de folículos. Al inicio, existe una gran cantidad de folículos que disminuyen con el paso de los días, pero los que permanecen continúan aumentando de tamaño hasta medir de 8 a 10 mm de diámetro poco antes de la ovulación. Además, los folículos en desarrollo comienzan a producir estrógenos. Esta etapa se caracteriza por enrojecimiento y tumefacción de los labios vulvares, alteración en el comportamiento de la cerda que se observa inquieta y deseosa de montar a otras; además, los estrógenos estimulan al hipotálamo para producir un pico de secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), que provoca una descarga hipofisiaria de LH, hormona responsable del desencadenamiento de la ovulación y de la formación del cuerpo lúteo. Por último, el estro es la etapa donde la cerda es sexualmente receptiva al macho, dicha etapa dura de 2 a 3 días donde ocurre la maduración final de los folículos que alcanzan su máximo nivel esteroidogénico, produciéndose un pico preovulatorio de estrógenos. Esta oleada de estrógenos desencadena el pico preovulatorio de LH y, consecuentemente, la

ovulación. En la cerda la ovulación ocurre de forma espontánea, y se produce entre las 36 y 40 horas después del comienzo del estro y se da en forma gradual (Galina y Valencia, 2008).

c) El ciclo estral y la migración de linfocitos en la tuba uterina.

Las características histológicas, funcionales y la migración de linfocitos en las TU se modifican a lo largo del ciclo estral por la influencia de las hormonas esteroides: estrógenos y progesterona, que a su vez están determinadas por variaciones en la concentración de gonadotropinas hipofisarias (FSH y LH) (Anzaldúa, et al, 2008). Sin embargo, se han identificado la presencia de receptores a eCG (con efecto predominante de FSH) y hCG (con efecto predominante de LH) a lo largo del tracto reproductor de la hembra de diversas especies domésticas, por lo que además de los órganos blanco tradicionales se piensa que actúen de manera directa en otros órganos del aparato reproductor, entre ellos las TU. Como parte de los posibles efectos fisiológicos de estas gonadotropinas se encuentra la migración de linfocitos a través de las porciones histológicas de las TU; actualmente se desconocen los mecanismos de regulación en la migración de linfocitos cuando se aplican gonadotropinas no hipofisarias exógenas en cerdas (eCG y hCG) (Anzaldúa, et al, 2008).

Los linfocitos son glóbulos blancos que presentan un núcleo redondo que ocupa la mayor parte de la célula y se dividen conforme a su función en 3 tipos: 1) los linfocitos T, que se encargan del sistema inmunitario de mediación celular, se originan en el timo, y se clasifican en: a) linfocitos T citotóxicos, que establecen contacto y destruyen a las células extrañas o alteradas viralmente; b) linfocitos T cooperadores, que participan en el inicio y desarrollo de la respuesta inmune tanto

de linfocitos T como de linfocitos B; c) linfocitos T supresores, que son células que reprimen las respuestas inmunológicas tanto por otros linfocitos T como linfocitos B; 2) los linfocitos B, que se encargan del sistema inmunitario de mediación humoral, se originan en la médula ósea y se diferencian en células plasmáticas que producen los anticuerpos contra antígenos; y 3) los linfocitos nulos o células asesinas naturales (Natural Killers - NK) que pueden destruir algunas células extrañas y viralmente alteradas sin la influencia del timo o de linfocitos T (Gartner y Hiatt, 2002). La presencia de linfocitos en las TU ha sido descrita en distintas especies de mamíferos domésticos, incluyendo a la coneja, donde se indica que la distribución de linfocitos intraepiteliales y de linfocitos en la lámina propia de tejido conjuntivo subepitelial en la mucosa de distintas regiones anatómicas de las TU registra variaciones en los primeros 4 días de la gestación, lo que demuestra la existencia de una distribución regionalizada de estas células en la mucosa tubárica. Estudios en roedores (Kaushic C, et al, 1998) y humanos (Givan A.L., et al, 1997) han indicado que la etapa del ciclo estral y el nivel de hormonas ováricas tienen un efecto significativo en el número, localización y función de las células inmunes en el tracto reproductor femenino (Gu, et al, 2005). En las TU de vacas en diestro, aumenta el número de linfocitos de la mucosa de la región del ámpula en relación con el istmo, lo que indica que el ambiente hormonal influye sobre la migración linfocitaria (Anzaldúa, et al, 2008).

En la TU se debe mantener un medio aséptico, libre de microorganismos que puedan colonizar esporádicamente el tracto reproductor superior. En general, las superficies mucosas están protegidas por mecanismos de defensa tanto específicos como no específicos. Tomando en cuenta las células inmunes, los

mecanismos de defensa no específicos incluyen a los neutrófilos y macrófagos, y los linfocitos están incluidos en los mecanismos de defensa específicos (especialmente localizados en el epitelio o bajo del mismo) (Jiwakanon, et al, 2005). En la mucosa del aparato reproductor de la hembra, los linfocitos se pueden encontrar principalmente en el espacio intraepitelial y en la lámina propia (tejido conjuntivo) y como tejido asociado a mucosas (Tizard, 2009). Se sabe que a lo largo del ciclo estral se modifica la migración de linfocitos presentes en la mucosa de los órganos reproductivos de la hembra, por lo que ocurren variaciones en la inmunidad local, lo que hace que los animales sean más o menos susceptibles a diversas infecciones del tracto reproductor (Anzaldúa, et al, 2008). Dichos cambios en la migración de linfocitos a lo largo de las diferentes etapas del ciclo estral de la cerda, posiblemente se vea afectado con la aplicación de gonadotropinas hipofisarias (eCG y hCG) las cuales presentan actividades parecidas a gonadotropinas hipofisarias (FSH y LH, respectivamente) alterando el equilibrio de la actividad inmune que debe permanecer en la TU para protección contra antígenos patógenos ascendentes y los procesos reproductivos a nivel celular, destacando su uso para la sincronización de estros. El presente trabajo tuvo como finalidad conocer cómo se modifica la población de linfocitos intraepiteliales y de la lámina propia de las TU cuando se utilizan diferentes protocolos para la administración de gonadotropinas no hipofisarias exógenas.

HIPÓTESIS

Si se administran distintas dosis de gonadotropinas no hipofisarias exógenas (eCG y hCG) de manera independiente y en combinación a cerdas nulíparas, entonces habrá variaciones en la cantidad de linfocitos intraepiteliales y de la lámina propia del ámpula, la unión istmo-ampular y el istmo de las tubas uterinas de estos animales.

OBJETIVO

Cuantificar y analizar la cantidad de linfocitos intraepiteliales y de la lámina propia que se encuentran en las TU de cerdas nulíparas tratadas con diversas dosis de gonadotropinas no hipofisarias exógenas (eCG y hCG) en comparación con los animales no tratados (grupo control).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Cuantificar y analizar la cantidad de linfocitos intraepiteliales y de la lámina propia presentes en el ámpula de las tubas uterinas de cerdas nulíparas tratadas con diversas dosis de gonadotropinas no hipofisarias exógenas (eCG y hCG), en comparación con los animales del grupo control.
2. Cuantificar y analizar la cantidad de linfocitos intraepiteliales y de la lámina propia presentes en la unión istmo-ampular de las tubas uterinas de cerdas nulíparas tratadas con diversas dosis de gonadotropinas no hipofisarias exógenas (eCG y hCG), en comparación con los animales del grupo control.

3. Cuantificar y analizar la cantidad de linfocitos intraepiteliales de la lámina propia presentes en el istmo de las tubas uterinas de cerdas nulíparas tratadas con diversas dosis de gonadotropinas no hipofisiarias exógenas (eCG y hCG), en comparación con los animales del grupo control.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 12 cerdas prepúberes (Landrace X Yorkshire), las cuales fueron alojadas en corrales comunes y un macho celador, ubicados en las instalaciones del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Porcina (CEIEPP) ubicado en Jilotepec, Estado de México, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

a) Manejo de las hembras.

Se alimentaron 2 veces al día (2 kg/día) con alimento comercial de engorda y se monitorearon diariamente con la finalidad de detectar el primer estro natural en presencia del macho celador. Una vez que las hembras presentaron el primer estro, dicho momento se tomó como el día 1 para iniciar el calendario de aplicación de los productos hormonales. Al momento de detectar el segundo estro, por medio de la prueba de cabalgue en presencia del macho celador se comprobó que las hembras efectivamente se encontraran en estro y se procedió al sacrificio para obtener el tracto reproductor; siguiendo el mismo protocolo para todas las cerdas.

b) Diseño Experimental.

Para evaluar el efecto de diferentes dosis de gonadotropinas no hipofisiarias exógenas (eCG y hCG) sobre la migración de linfocitos intraepiteliales y de la lámina propia de las TU, las 12 cerdas prepúberes fueron divididas en 3 grupos (n=4), respecto a su condición corporal, con un rango de peso de 100 a 105 kg al iniciar el experimento.

Grupo 1 (Control: CX): para igualar la situación de estrés con los otros dos grupos, al día 17 post detección del primer estro a las hembras se les administró 5 ml de

Solución Salina Fisiológica (SSF) por vía IM; 48 horas después (día 19) se les administró una segunda dosis de SSF por vía IM; 48 horas después (día 21) se realizó el sacrificio de las cerdas. Grupo 2 (PG600®: producto comercial a utilizar): al día 17 post detección del estro, a las hembras se les administró la dosis comercial de PG600®, que correspondió a 400 UI de eCG y 200 UI de hCG, por vía IM; 48 horas después (día 19) se les administró 5 ml de SSF por vía IM; 48 horas después (día 21) se realizó el sacrificio de las cerdas. Grupo 3 (M/M: M = 1,000 UI): al día 17 post detección del primer estro, a las hembras se les administró 1,000 UI de eCG, por vía IM; 48 horas después (día 19) se les administró 1,000 UI de hCG, por vía IM; 48 horas después (día 21) se realizó el sacrificio de las cerdas.

c) Obtención de las Muestras.

Las cerdas, con un rango de 120 a 132 kg de peso, fueron tranquilizadas y anestesiadas con la aplicación de 20 mg/kg de ketamina + 2 mg/kg de xilacina (tranquilizante vía IM) y 7 mg/kg de tiletamina-zolacepam (anestésico vía IM). Cuando las cerdas se encontraron en plano quirúrgico, confirmado por la ausencia del reflejo nasal, palpebral y podal, se realizó una incisión sobre línea alba debajo de la cicatriz umbilical y se obtuvo el aparato reproductor completo de cada una de las cerdas (ovarios, TU, útero y cérvix) y fueron fijados en paraformaldehído al 4%. Las cerdas fueron sacrificadas por sobredosis de anestésico, administrando una dosis de 20 mg/kg de tiletamina-zolacepam. Los animales fueron destinados al Área de Composta y Lombricomposta del CEIEPP; con ello, además de obtener un producto de alta calidad para fertilizar cultivos de diversa índole, se aprovechan desechos que, de otra forma, funcionarían

como contaminantes del ambiente. Posteriormente, las muestras fueron trasladadas al Laboratorio del Departamento de Morfología de la FMVZ-UNAM y se mantuvieron fijadas en paraformaldehído al 4% durante 24 horas. Se obtuvieron las tres regiones anatómicas de las TU destinadas al estudio seleccionadas por apariencia macroscópica. Para facilitar la exacta localización de cada una de las tres regiones se adoptó una metodología, en la cual el total de la longitud de las TU fue dividida en 4 cuartos (Juárez-Mosqueda, M.L., et al, 2014). El infundíbulo se detectó en el primer cuarto, el segundo cuarto correspondió al ampulla (AMP), inmediatamente después se detectó la unión istmo-ampular (UIA) en el tercer cuarto, y por último se detectó el istmo (IST) en el cuarto cuadrante, que se encuentra adyacente a los cuernos uterinos. Las estructuras destinadas para el estudio (AMP, UIA e IST) se procesaron rutinariamente mediante un histoquinete automático (American Optical p 800) para su inclusión en parafina. Las muestras se cortaron mediante un microtomo (Spenser 820) a 4 μm de grosor y se utilizó la tinción de H-E (Hematoxilina-Eosina) para observar la arquitectura histológica normal y para determinar la cantidad de linfocitos intraepiteliales (LIE) y linfocitos de la lámina propia (LLP) de las TU. Las muestras teñidas se observaron en un microscopio de campo claro "Carl Zeiss" para cuantificar la cantidad de LIE y LLP de las estructuras indicadas de las TU mediante el empleo de un ocular retículo micrométrico "Carl Zeiss 19" y el objetivo 40x (400x de aumento total). La unidad básica de medida se tomó como un campo microscópico con un área total de la retícula de 40,000 μm^2 , así, tomando 12 campos microscópicos, dando un total de 480,000 μm^2 /segmento/animal, y fue un total de 48 campos por estructura y con base en

cada grupo. Las laminillas fueron cubiertas por una identificación numérica y al azar, de tal forma que no se conoció su procedencia durante el conteo. La suma de ambas poblaciones (LIE y LLP) resultó en los linfocitos totales (LT). Se obtuvo la media y desviación estándar de las tres poblaciones de linfocitos para las tres regiones anatómicas de las TU y, para determinar la existencia de diferencias estadísticas, se empleó el Análisis de Varianza (ANOVA) de una sola vía seguida de una prueba no paramétrica de Tukey en la comparación de medias entre grupos. La media se obtuvo dividiendo el total de los linfocitos entre los 48 campos por cada estructura y tratamiento. Se obtuvieron las gráficas con el programa Prism GraphPad.

RESULTADOS

En la población de LIE, se observaron disminuciones significativas en los animales del grupo M/M en el AMP y en la UIA en comparación con las mismas estructuras de los otros dos grupos (CX y PG600). Sin embargo, en el IST del grupo M/M solo se observó disminución significativa comparado con el IST del grupo PG600. No hubo diferencias significativas entre las tres estructuras de la TU del grupo CX y PG600 y tampoco entre el IST del grupo CX comparado con las tres estructuras del grupo M/M (Gráfica 1).

En la población de LLP, el IST del grupo CX presentó disminución significativa comparado con el AMP y la UIA del mismo grupo y la UIA del grupo PG600 y no presentó diferencias significativas comparado con las tres estructuras del grupo M/M. Las tres estructuras del grupo M/M y el IST del grupo CX presentaron disminuciones significativas comparadas con la UIA del grupo PG600 (Gráfica 2).

Al sumar las dos poblaciones celulares (LIE y LLP) resultando en los LT, se observó que el grupo M/M mostró disminuciones significativas en las tres regiones estudiadas de la TU en comparación con los otros dos grupos (CX y PG600), y el IST del grupo M/M solo presentó disminución significativa comparado con el IST del grupo PG600. No se observaron diferencias significativas entre los grupos CX y PG600, excepto el IST del grupo CX, el cual presentó una disminución significativa comparado con el AMP del mismo grupo y el IST del grupo PG600 (Gráfica 3).

Se deben tomar en cuenta las diferencias significativas del grupo CX en comparación con los grupos PG600 y M/M con base en las comparaciones entre

mismas estructuras. Con esto, en la población de LIE, se mostraron disminuciones significativas en el AMP y la UIA del grupo M/M en comparación con el AMP y la UIA del grupo CX, respectivamente, es decir, el tránsito de linfocitos en el epitelio luminal de las TU disminuyó con el tratamiento de 1,000 UI de eCG y 1,000 UI de hCG administradas de forma independiente. En cuanto a los LLP, se podría esperar diferencias similares en el grupo M/M comparado con los otros dos grupos, pero a la altura de la lámina propia solo difirió del grupo PG600 comparado con el grupo M/M, donde los linfocitos después de un tratamiento con PG600 en la UIA aumentaron sin diferencia significativa en comparación con el grupo CX, pero se mostró disminución significativa en el grupo M/M comparado con el grupo PG600 a la altura de la misma estructura anatómica. En cuanto a los LT, se mostraron disminuciones significativas en el AMP y la UIA del grupo M/M en comparación con el AMP y la UIA del grupo CX, respectivamente; y se mostró la mayor cantidad en el IST del grupo PG600 con un aumento significativo comparado con el IST de los grupos CX y M/M.

Dichos resultados se describen en las gráficas citadas, además de las figuras que se citan más adelante en la discusión como representación de las diferencias significativas encontradas en cada uno de los grupos.

DISCUSIÓN

En el presente estudio se observó que, en el grupo CX, el AMP presentó significativamente un mayor número de LLP y LT en comparación con el IST (figura 1). Esto es similar con el estudio reportado por Jiwakanon, et al, (2005) donde se presentó un aumento significativo en la población de linfocitos intraepiteliales y del tejido conectivo subepitelial (lámina propia) marcados como CD2+ (linfocitos T, linfocitos B y células NK) y CD3+ (linfocitos T) presentes en el AMP en comparación con el IST en las TU de cerdas en la etapa de proestro, indicando distintas funciones inmunes dentro de las diferentes porciones de la TU. Cabe destacar que en el presente estudio no se observaron diferencias significativas en los LIE del grupo CX.

En los animales del grupo PG600, no se observaron diferencias significativas en LIE, LLP y LT entre las diferentes regiones anatómicas estudiadas. A pesar de ser un producto ampliamente utilizado para la sincronización de estros y superovulación en cerdas jóvenes y adultas, no presentó las mismas modificaciones que los animales del grupo CX. Sin embargo, de manera similar al grupo CX, el IST presentó una disminución significativa comparado con el AMP y la UIA del grupo PG600, en la población de LLP.

Por lo anterior, el ambiente de la TU representa un sitio inmunológico único que apoya un balance delicado entre la protección de la TU contra infecciones por microorganismos ascendentes potencialmente patógenos y manteniendo un ambiente permisivo para la supervivencia de espermatozoides alogénicos y embriones semi-alogénicos, durante la fase preovulatoria bajo condiciones

fisiológicas, sugiriendo la participación de la inmunidad innata local (Marey, et al, 2014), tomando en cuenta que una respuesta inmune específica no ocurre debido a la presencia de espermatozoides en el IST de la TU. La principal función del reservorio espermático es asegurar que, en el momento de la fertilización, el número de espermatozoides fértiles adecuados, aunque no excesivos, esté presente en la UIA de la TU de la cerda. Para que se logre este objetivo, el reservorio espermático mantiene un gran número de espermatozoides en un segmento reducido, la unión útero-túbárica debajo del IST, la cual durante el periodo preovulatorio tiene una luz estrecha, su lámina propia se torna edematosa y está llena de un fluido tubárico viscoso. Además, el reservorio mantiene la viabilidad espermática y la capacidad fertilizante, escapando al rechazo por el sistema inmune y, presumiblemente, modula la capacitación antes de la ovulación y, finalmente, el reservorio previene la polispermia reteniendo los espermatozoides y controlando su liberación a través del sitio de fertilización, ya sea continuamente o en una señal dada, todavía desconocida (Rodríguez-Martínez, H., et al, 2001).

Los linfocitos de la TU representan una forma de tejido linfoide asociado a mucosas (Gartner y Hiatt, 2002) capaces de facilitar la detección de antígenos, el mejoramiento inmunológico, memoria y respuestas efectoras (Menge, Edwards y Naz, 1993). Sin embargo, hay evidencia de que, si los espermatozoides están presentes simultáneamente con infección, los linfocitos pueden sensibilizarse a dichos antígenos (Brinsko y Ball, 2006). Además, los linfocitos T circulan constantemente por el organismo, en diversos fluidos tisulares y son los linfocitos mayoritarios en la sangre representando entre el 60 y el 80%. En su camino, inspeccionan el cuerpo en busca de antígenos extraños, preferentemente en los

lugares de invasión microbiana y de inflamación (Tizard, 2009), si consideramos que durante el proestro y estro se presentan algunos cambios funcionales que toman lugar en la TU, como son: la capacitación espermática y el desarrollo de ovocitos; esto puede relacionarse con las modificaciones observadas en los procesos de migración de células inmunes a través de la TU durante las diferentes etapas del ciclo estral (Jiwakanon, et al, 2005).

En nuestro estudio observamos que el IST del grupo CX no mostró diferencias significativas en comparación con los otros dos grupos estudiados en la población de LIE, pero sí en la población de LLP. Esto puede indicar que en el IST se establece una menor actividad inmunológica a diferencia del AMP y la UIA de la TU, destacando que la aplicación de gonadotropinas no hipofisarias modifican en menor medida la migración de linfocitos en el IST; en cambio, se observó una mayor actividad inmune por parte de los linfocitos en el AMP y la UIA, posiblemente apoyando en la protección contra antígenos patógenos ascendentes y/o por la posible presencia de reservorio espermático que esté acompañado con algún microorganismo patógeno. Si se comprueba un predominio de linfocitos T, que son importantes para la protección contra antígenos patógenos a lo largo de toda la TU, es probable que deban modularse para permitir, al mismo tiempo, los procesos reproductivos que se llevan a cabo en las diferentes regiones anatómicas de este órgano tubular.

En el estudio de Marey, et al, (2014) en bovinos, se propone que es necesaria la supresión de la actividad fagocitaria por parte de células del sistema inmune innato contra los espermatozoides, con la finalidad de alcanzar el proceso de fertilización. Esta supresión puede ocasionar una disminución en la respuesta

inflamatoria del IST. Sin embargo, es posible que en el AMP y la UIA de la TU deban reforzarse las actividades inmunes para generar un ambiente de protección, lo que explicaría el aumento de linfocitos que observamos en LLP y LT (figura 1).

En los animales del grupo M/M, no se observaron diferencias significativas en LIE, LLP y LT entre las regiones anatómicas estudiadas. En la población de LIE, se encontró una disminución significativa en el AMP y la UIA del grupo M/M comparado con las mismas estructuras de los otros dos grupos (figuras 2 y 3). En el caso del IST del grupo M/M, solo mostró una disminución significativa en comparación con el IST del grupo PG600 en la población de LIE y LT (figura 4). A partir de esta descripción, se destaca uno de los resultados más notables en el presente estudio que fue la disminución significativa de los LT en las tres regiones anatómicas del grupo M/M comparado con los otros dos grupos, excepto con el IST del grupo CX (figuras 2, 3 y 5).

En el estudio de Jiwakanon, et al, (2005), se informó que la distribución de células CD2+ y CD3+ fueron las subpoblaciones de linfocitos más común tanto intraepiteliales como en la capa de tejido conectivo subepitelial (lámina propia). Al considerar ambos marcadores, el número de células inmunopositivas fue mayor en anestro que en proestro, al igual que las células CD79.

Cabe resaltar que las cuantificaciones de las poblaciones linfocitarias reportadas en el presente estudio se realizaron al momento del estro, donde se presentan niveles altos de estrógenos al igual que en el proestro, como se indica en el estudio de Jiwakanon, et al, (2005), donde se obtuvieron los niveles máximos de estradiol, resultando en cambios tanto en la infiltración celular inmune como morfológicos, por ejemplo, la evaluación semicuantitativa de la presencia de

gránulos citoplasmáticos y la intensidad de tinción en las células secretoras, las cuales mostraron un número intermedio de gránulos citoplasmáticos e intensidad en las regiones estudiadas (AMP, UIA e IST) en comparación con los animales del grupo control y animales con la aplicación de progesterona, en las células epiteliales de la TU de cerdas en estro, reportada en el estudio de Juárez-Mosqueda, et al, (2014), destacando que en la cerda y otros mamíferos, las células secretoras sintetizan y secretan hacia la luz glicoproteínas en una forma estrógeno-dependiente (Brown y Cheng, 1986) cumpliendo diversas funciones: factores de secreción, moléculas de señalización paracrina, entre otras. Tomando en cuenta el grupo M/M, donde la administración de gonadotropinas no hipofisarias fue de 1,000 UI de eCG y hCG, interactuando con los receptores ováricos de FSH y LH, respectivamente, es posible que provoquen una actividad parecida y prolongada a estas gonadotropinas hipofisarias (Hafez y Hafez, 2002), aumentando los niveles de estrógenos.

La inyección de eCG induce respuestas superovulatorias cuando se aplica en los días 15 o 16 del ciclo estral (Hafez y Hafez, 2002), que en nuestro estudio corresponde al día 17 dado que, para nosotros, el momento del estro anterior correspondió al día 1 en lugar de día 0, como indica, por ejemplo, Hafez y Hafez, (2002). La aplicación posterior de hCG (día 19) puede influir en el pico preovulatorio de LH resultando en la inducción de la ovulación (Hafez y Hafez, 2002) y que, presumiblemente, como menciona Hafez y Hafez, (2002), las gonadotropinas hayan reducido la duración del ciclo e incrementado la duración del estro; sin embargo, los óvulos liberados presentan tasas de fecundación aceptables, de tal forma que después de una inyección intramuscular de hCG (500

UI) durante el proestro, la mayor parte de las hembras presentan ovulación 44 a 46 horas más tarde.

Las concentraciones de estrógenos se mantienen en un nivel alto por la presencia de los receptores a LH, lo cual coincide con la actividad de FSH por parte de la eCG exógena que podría mantener a los estrógenos aumentados produciendo quizá un pico preovulatorio prematuro en el caso del grupo M/M, considerando que la toma de muestras de las TU en el presente estudio se realizó durante el estro, (hasta 12 horas después de haber iniciado) coincidiendo con la posible presencia de altas concentraciones de LH y estrógenos, presentando signos de estro en las hembras. Para lo anterior, se debe tomar en cuenta que el celo en hembras nulíparas puede durar hasta 2 días, como menciona Falceto, (2015).

Además de los receptores a LH en el ovario, se ha descrito la presencia de receptores en el epitelio, músculo liso y en el endotelio de los vasos sanguíneos de la TU de la cerda mediante procedimientos inmunohistoquímicos, siendo aparentemente más notables en el epitelio de la mucosa del AMP que en el IST al momento de la fase folicular y lútea temprana del ciclo estral (Fields y Shemesh, 2004), mostrando una distribución similar a la TU de la mujer (Lei, et. al., 1993). La LH, al actuar sobre sus receptores tubáricos, juega un papel muy importante en la relajación del miosálpinx cuando se administra la combinación de estradiol y progesterona (Gawronska, et. al., 1999), y tal vez sea el principal factor responsable en abrir la unión istmo-ampular para permitir el transporte de espermatozoides (Ziecik, et. al., 2001).

En varias especies domésticas, el mecanismo de acción de LH sobre el epitelio de las TU se lleva a cabo mediante la secreción local de factores liberadores, como

las prostaglandinas (PGs), siendo esta una acción común como resultado de la estimulación por LH fuera de las gónadas (Fields y Shemesh, 2004). Estudios *in vitro* en cultivo de células epiteliales de la TU de mujer demostraron que la aplicación de estrógenos (estradiol) provoca un incremento significativo de los receptores a LH/hCG, mientras que el tratamiento con progesterona no tuvo efecto significativo sobre los niveles de receptores a LH/hCG por sí sola (Gawronska, Stepień y Ziecik, 1999).

El fluido de la TU está determinado por la secreción de glucosaminoglucanos y glicoproteínas al incrementar su viscosidad, evitando la pérdida de fluidos y controlando los cambios osmóticos estabilizando el medio que rodea a los gametos y embriones en relación con el epitelio y la protección inmunológica local (Rodríguez-Martínez, H., et al, 2001).

Existen evidencias que las moléculas secretadas localmente por las células epiteliales de las TU regulan una amplia variedad de funciones y que pueden tener efectos aditivos, sinérgicos y antagonistas, siendo la LH una de las hormonas que pueden regular potencialmente estos procesos. Entre estas moléculas secretadas están la síntesis de la prostaglandina E2 (PGE2) y la prostaglandina F2 α (PGF2 α) (Wijayagunawardane, Miyamoto y Sato, 1999), destacando varias enzimas para su síntesis y entre otros factores que influyen en el funcionamiento del órgano (Fields y Shemesh, 2004).

Las PGs son mediadores locales importantes de las TU, y están involucradas en la ovulación y la fertilización al igual que el transporte de ovocitos y embriones; originadas del ácido araquidónico (Malysz-Cymborska, et al, 2013), destacando sus niveles aproximadamente dos veces mayor en la fase folicular que en la fase

lútea del ciclo estral en humano (Nieder y Augustin, 1986) y bovino (Gavreau, et al, 2010)

Se ha descrito que la hCG puede regular positivamente la síntesis de la prostaglandina-endoperóxido sintetasa 2 (PTGS2), entre otras, que participan en la síntesis de PGs en la TU de humano (Han, Lei y Rao, 1996); además, la expresión de la PTGS2 en la TU de cerda se encontró incrementada después de la infusión del plasma seminal, mientras que en las cerdas tratadas con eCG/hCG disminuyó significativamente en el AMP y el IST. Este mismo tratamiento (eCG/hCG) provocó una disminución de la PGE2 y un aumento de la PGF2 α en la TU comparado con las cerdas inseminadas sin tratamiento (Malysz-Cymborska, et al, 2013).

Por lo anterior, es probable que el tratamiento de eCG/hCG pueda afectar directamente en la actividad de PTGS2, pero no así para todas las PGs, ya que se ha demostrado que existe una relación directa entre la presencia de receptores a LH/hCG y la inducción de PTGS2 en la cerda (Stepien, Shemesh y Ziecik, 1999). Además, estudios llevados a cabo en bovinos indicaron que las células epiteliales de la TU están influenciadas por niveles preovulatorios de 17 β -estradiol, progesterona y LH para mantener una homeostasis inmunológica y lograr una fertilización exitosa inhibiendo respuestas pro-inflamatorias que afectan a los espermatozoides alogénicos y a los embriones semialogénicos. Se sugiere que esta inhibición se lleva a cabo a través de la secreción epitelial de factores que puedan suprimir la actividad fagocitaria de neutrófilos hacia los espermatozoides mediante la reducción de su migración, especialmente durante la fase preovulatoria caracterizada por el incremento en los niveles de LH. En la fase

preovulatoria, cuando los espermatozoides están expuestos a ser fagocitados, la secreción de PGE₂ hacia el fluido de la TU, inducida por LH, tiene un papel importante en la supresión de neutrófilos al unirse con receptores EP₂ y EP₄, otorgando un equilibrio anti-inflamatorio mediante la supresión de citosinas pro-inflamatorias, protegiendo de esta forma a los espermatozoides evitando su fagocitosis por neutrófilos y favoreciendo la supervivencia espermática (Marey, et al, 2016).

En general, se sabe que la administración de estradiol incrementa los niveles de PGs en las células epiteliales de la TU de bovino (Wijayagunawardane, Miyamoto y Sato, 1999). Así, la TU genera un estatus de inmunotolerancia que asegura la supervivencia espermática hasta la fertilización (Marey, et al, 2014).

En el presente estudio se puede suponer una posible acción sinérgica entre la actividad parecida a LH por parte de hCG (particularmente en el grupo M/M) junto con el aumento de estrógenos en el estro (momento de la obtención de muestras en el presente estudio), que se contradice con la disminución en la síntesis de PGE₂ observada por Malysz-Cymborska, et al, (2013), esta diferencia puede deberse al momento de la toma de muestras (3 días después del estro en comparación con nuestro estudio que se llevó a cabo en el estro).

Se ha observado que la PGE₂ tiene múltiples y aparentemente efectos funcionales. Su complejidad también se observa en la modulación de la respuesta inmune, por lo que se ha demostrado que la activación de receptores a PGE₂ (EP) regulan la función de muchos tipos de células incluyendo macrófagos, células dendríticas y linfocitos T y B que conducen tanto a efectos pro como anti-inflamatorios (Hata y Breyer, 2004), dependiendo de la unión a receptores EP,

generando una actividad anti-inflamatoria cuando actúan los receptores EP2 (Nataraj, et al, 2001) y EP4 (Kabashima, et al, 2003) ayudando en la inhibición de linfocitos T.

En el presente estudio, debido a los efectos predominantes de FSH y LH como resultado de la administración de eCG y hCG, respectivamente, es posible que hayan provocado un incremento en la concentración plasmática de estrógenos por la presencia de estro. Junto con los estrógenos, la participación de la actividad de LH por parte de la hCG a través de sus receptores en la TU ayudan en la liberación de factores anti-inflamatorios apoyando los procesos de transporte de espermatozoides, capacitación espermática y fertilización de gametos; como parte de esta respuesta inmune anti-inflamatoria, en particular en el grupo M/M comparado con los otros dos grupos (CX y PG600), es posible la disminución de la población de linfocitos.

Posiblemente, por una mayor presencia de receptores a LH/hCG al incrementarse los estrógenos en el estro y la unión de la hCG a dichos receptores, se provoca la secreción de factores que influyen en la homeostasis inmune disminuyendo la población de LT en el AMP en comparación con el IST en el grupo PG600, y mostrando una disminución significativa en los LT del grupo CX en el IST en comparación con el AMP y la UIA posiblemente por una menor actividad endógena de LH, donde no hay presencia de hCG exógena.

Como se menciona en el estudio de Jiwakanon, et. al., (2005), la mayor cantidad de neutrófilos en el AMP al momento del estro, y el incremento de LT en el AMP y la UIA en el grupo CX observado en el presente estudio, puede indicar que se requiera una mayor protección inmune para evitar la presencia de

microorganismos potencialmente patógenos en las regiones más cercanas al ovario, ya que están en contacto con la cavidad abdominal; esto pudiera explicar porqué en el presente estudio existe una mayor presencia de linfocitos en el AMP y en la UIA en comparación con el IST, donde se llevan a cabo los procesos de reservorio espermático y la capacitación espermática para una posterior fertilización de gametos.

CONCLUSIÓN

En el presente trabajo se demostró que la aplicación de diversas dosis de gonadotropinas no hipofisiarias (eCG y hCG) indujo variaciones en la migración de los linfocitos modificando las poblaciones de LIE y LLP y, por ende, de LT, en las TU de cerdas, cuando son utilizadas con propósitos de superovulación y sincronización de estros en cerdas.

La aplicación de 1,000 UI de eCG y 1,000 UI de hCG (grupo M/M) indujo disminuciones significativas en la cantidad de LT en las 3 regiones estudiadas que puede comprometer la respuesta inmune específica contra microorganismos ascendentes potencialmente patógenos. Tratándose de la TU, se debe establecer un equilibrio entre la protección inmune y los procesos reproductivos que se llevan a cabo a nivel celular al momento del estro antes mencionados y, con esto, destacando que la aplicación de gonadotropinas no hipofisiarias puede alterar el equilibrio en la migración de linfocitos y la protección por parte de la inmunidad específica y, en comparación con el número de linfocitos presentes en el grupo CX, sugiere que este efecto no es el mismo en todas las regiones anatómicas, lo que se traduce en una posible protección inmune distinta y que esté relacionado con los diferentes procesos que ocurren en cada una de ellas.

Tanto en el grupo CX como PG600 no se observó una disminución significativa en los LT comparados con el grupo M/M, indicando que la respuesta inmune local por parte de linfocitos es similar en los dos primeros grupos.

No se conoce la causa del aumento significativo en la población de LLP y LT de la UIA del grupo PG600 comparado con la UIA del grupo M/M.

Además de lo anterior, se propone que, en un futuro, se realicen estudios para determinar si, efectivamente, existen factores secretados por las células epiteliales de la TU que puedan tener una mayor acción sobre la disminución de linfocitos; así mismo serán necesarios estudios que impliquen la expresión de los receptores tanto en ovario como en la TU para LH/hCG y los mecanismos reguladores de respuestas tisulares, desarrollando mayor investigación respecto a la expresión de los receptores a LH/hCG en la TU al aplicar gonadotropinas no hipofisarias exógenas, estableciendo que todavía hay poca información acerca del mecanismo que controla los sitios de unión de LH/hCG en la TU, apoyándose en la medición de concentraciones plasmáticas de estrógenos, particularmente al momento de presentarse el estro.

Para poder profundizar en el conocimiento sobre las diferencias cuantitativas de linfocitos, se necesita conocer la naturaleza específica de dichas células inmunes mediante la identificación de sus receptores de membrana CD para conocer su presencia específicamente como linfocitos T cooperadores, linfocitos T citotóxicos, linfocitos B, células NK, entre otras, que puedan ayudar en la regulación de una actividad inmune local en las TU de cerda, en un estado fisiológico normal comparado con los protocolos de aplicación trabajados en el presente estudio o algún otro protocolo donde se utilicen gonadotropinas no hipofisarias exógenas para el desarrollo reproductivo óptimo de las cerdas.

REFERENCIAS

Anzaldúa, S.R., Villaseñor, H. y Pérez, M., 2008. Variación en la distribución de linfocitos epiteliales e intersticiales en tubas uterinas de la coneja al inicio de la gestación. *Técnica Pecuaria México*, 46(3), p.333-344.

Banks, W., 1996. *Histología Veterinaria Aplicada*. México: Manual Moderno.

Brinsko, S. P. y Ball, B. A., 2006. Characterisation of lymphocyte subsets in the equine oviduct. *Equine Veterinary Journal*, 38(3), p.214-218.

Brown, C. R. y Cheng, W. K., 1986. Changes in composition of the porcine zona pellucida during development of the oocyte to the 2- to 4-cell embryo. *J. Embryol. Exp. Morphol*, 92, p.183-191.

Falceto, M. V., 2015. *Fisiopatología ovárica en la cerda*. España: Servet.

Fields, M. J. y Shemesh, M., 2004. Extragonadal luteinizing hormone receptors in the reproductive tract of domestic animals. *Biology of Reproduction*, 71(5), p.1412-1418.

Galina, C. y Valencia, J. ed., 2008. *Reproducción de los animales domésticos*. México: Limusa.

Gavreau D., et al, 2010. Expression of prostaglandin E synthases in the bovine oviduct. *Theriogenology*, 73(1), p.103-111.

Gawronska, B., et al, 1999. Estrogen-dependent expression of LH/hCG receptors in pig fallopian tube and their role in relaxation of the oviduct. *J Reprod Fertil*, 115(2), p.293-301.

Gawronska, B., Stepien, A. y Ziecik, A.J., 1999. Effect of estradiol and progesterone on oviductal LH-receptors and LH-dependent relaxation of the porcine oviduct. *Theriogenology*, 53(3), p.659-672.

Givan A.L., et al, 1997. Flow cytometric analysis of leukocytes in the human female reproductive tract: comparison of fallopian tube, uterus, cervix, and vagina. *Am. J. Reprod. Immunol*, 38(5), 350-359.

Gu, W, et al, 2005. Lymphocytes and MHC class II positive cells in the female rabbit reproductive tract before and after ovulation. *Immunology and Cell Biology*, 83, p.596-606.

Hafez, E.S., y Hafez, B. ed., 2002. *Reproducción e inseminación artificial en animales*. Traducido del inglés por G. Féher y E. Olvera. México: Mc-Graw-Hill.

Han S.W., Lei Z.M. y Rao C.V., 1996. Up-regulation of cyclooxygenase-2 gene expression by chorionic gonadotropin in mucosal cells from human fallopian tubes. *Endocrinology*, 137(7), p.2929-2937.

Hata, A.N. y Breyer, R.M., 2004. Pharmacology and signaling of prostaglandin receptors: Multiple roles in inflammation and immune modulation. *Pharmacology and Therapeutics*, 103(2), p.147-166.

I.C.V.G.A.N. y W.A.V.A. ed., 2012. *Nómina Anatómica Veterinaria*. Columbia, MO: Committe.

Jiwakanon, J., et al, 2005. The sow endosalpinx at different stages of the oestrus cycle and at anoestrus: Studies of morphological changes and infiltration by cells of the immune system. *Reprod Dom Anim*, 40(1), p.28-39.

- Juárez-Mosqueda, M.L., et al, 2014. Oestrus synchronization induces histomorphological changes in the uterine tube epithelium of the gilt. *Anatomia Histologia Embryologia*, 44(6), p.441-451.
- Kabashima, K., et al, 2003. Prostaglandin E2-EP4 signaling initiates skin immune responses by promoting migration and maturation of Langerhans cells. *Nat Med*, 9(6), p.744-749.
- Kaushic C, et al, 1998. Influence of the estrous cycle on the presence and distribution of immune cells in the rat reproductive tract. *Am. J. Reprod. Immunol*, 39(3), p.209-216.
- Malysz-Cymborska, I., et al, 2013. Effect of hCG and eCG treatments on prostaglandins synthesis in the porcine oviduct. *Reprod Dom Anim*, 48(6), p.1034-1042.
- Manjarin, R, et al, 2009. Effect of hCG treatment on the oestrous and ovulation responses to FSH in prepuberal gilts. *Reprod Dom Anim*, 44(3), p.434-434.
- Marey, M.A., et al, 2014. Bovine oviduct epithelial cells downregulate phagocytosis of sperm by neutrophils: prostaglandin E2 as a major physiological regulator. *Society for Reproduction and Fertility-Reproduction*, 147(2), p.211-219.
- Marey, M.A., et al, 2016. Local immune system in oviduct physiology and pathophysiology: attack or tolerance? *Domestic Animal Endocrinology*. 56(Suppl), S204-S211.
- Menge, A.C., Edwards, R.P. y Naz R.K., 1993. *Immunology of Reproduction*. E.U.A.: CRC Press, Boca Raton.
- Mishra, S., Lei, Z.M. y Rao, Ch.V., 2003. A novel role of luteinizing hormone in the embryo development in cocultures. *Biol Reprod*, 68(4), p.1455-1462.

Nataraj, C., et al, 2001. Receptors for prostaglandin E(2) that regulate cellular immune responses in the mouse. *J Clin Invest*, 108(8), p.1229-1235.

Nieder, J. y Augustin W., 1986. Prostaglandin E and F profiles in human fallopian tubes during different phases of the menstrual cycle. *Gynecol Obst Invest*, 21(4), p.202-207.

Rodríguez-Martínez, H., et al, 2001. Involment of oviduct in sperm capacitation and oocyte development in pigs. *Reproduction Supplement*, 58(1), p.129-145.

Stepien, A., Shemesh, M. y Ziecik A.J., 1999. Luteinizing hormone receptor kinetic and LH induced prostaglandin production throughout the estrous cycle in porcine endometrium. *Reprod Nutr Dev*, 39(1), p.663-674.

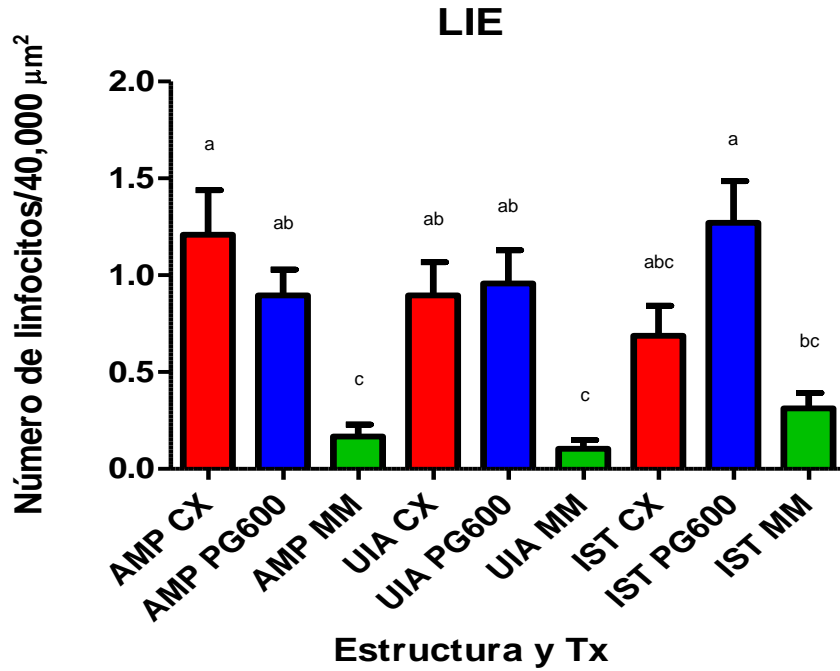
Tizard, I. ed., 2009. *Introducción a la Inmunología Veterinaria*. España: Elsevier.

Trujillo, M.E., et al, 2004, *Mejoramiento Animal. Cerdos*. México: SUA-UNAM.

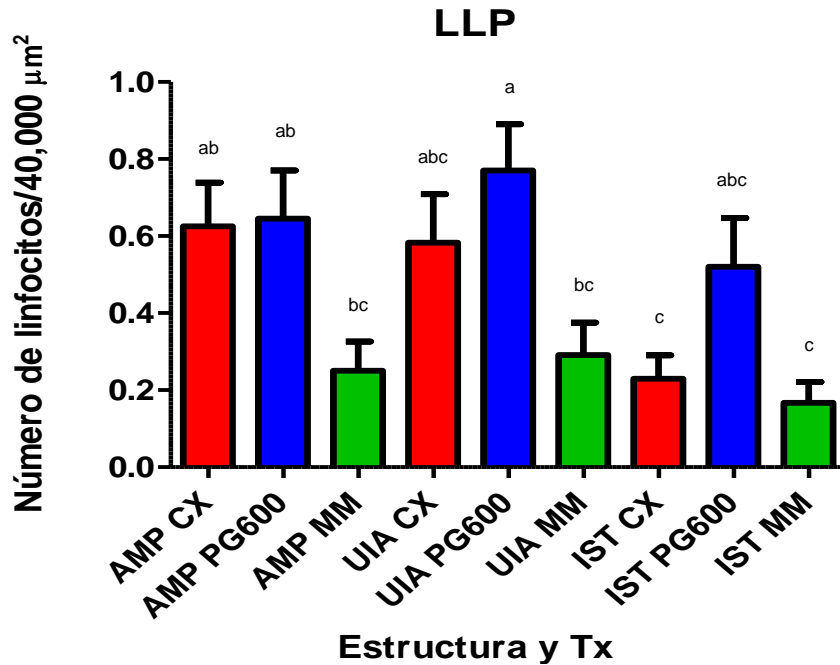
Wijayagunawardane M.P., Miyamoto, A. y Sato, K., 1999. Prostaglandin E2, prostaglandin F2a and endothelin-1 production by cow oviductal epithelial cell monolayers: effect of progesterone, estradiol 17b, oxytocin and luteinizing hormone. *Theriogenology*, 52(5), p.791-801.

Ziecik, A.J., et al, 2001. Nongonadal LH/hCG receptors in pig: Functional importance and Parallels to human. *Thieme Medical Publishers, Inc*, 19(1), p.19.30.

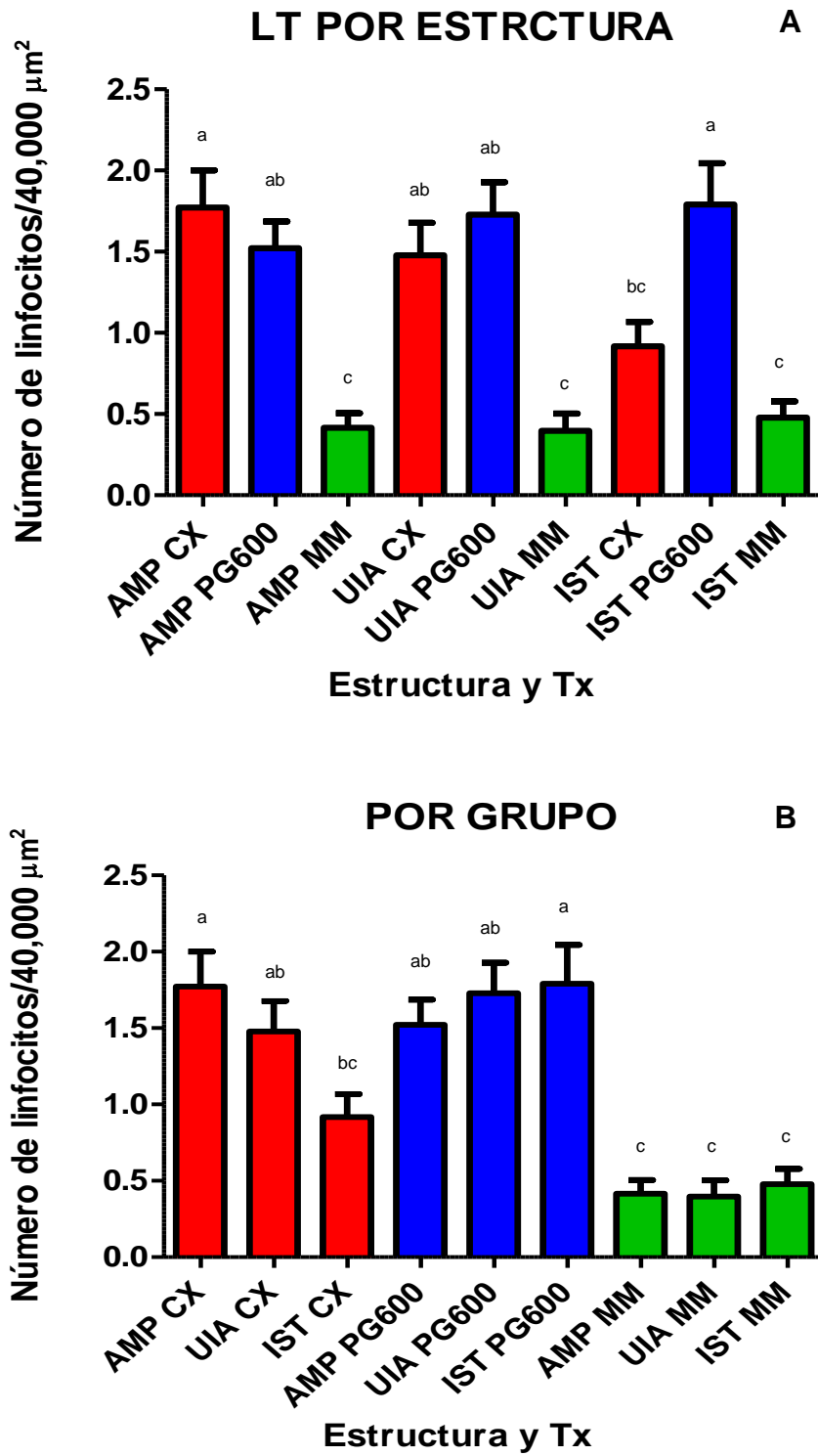
GRÁFICAS Y FIGURAS



Gráfica 1: Promedio de los linfocitos intraepiteliales (LIE) y \pm error estándar en las tres estructuras anatómicas estudiadas en las TU (ámpula (AMP), unión istmo-ampular (UIA) e istmo (IST)) en el grupo CX y los grupos tratamiento (PG600 y M/M). Literales diferentes indican diferencias significativas entre los grupos ($P < 0.05$).



Gráfica 2: Promedio de los linfocitos de la lámina propia (LLP) y \pm error estándar en las tres estructuras anatómicas estudiadas en las TU (ámpula (AMP), unión istmo-ampular (UIA) e istmo (IST)) en el grupo CX y los grupos tratamiento (PG600 y MM). Literales diferentes indican diferencias significativas entre los grupos ($P < 0.05$).



Gráfica 3: Promedio de linfocitos totales (LT) y \pm error estándar en las tres estructuras anatómicas estudiadas (A) y ordenadas por grupo (B) (ámpula (AMP), unión istmo-ampular (UIA) e istmo (IST)) en el grupo 1 (CX) y los grupos tratamiento (PG600) y MM). Literales diferentes indican diferencias significativas entre los grupos ($P < 0.05$).

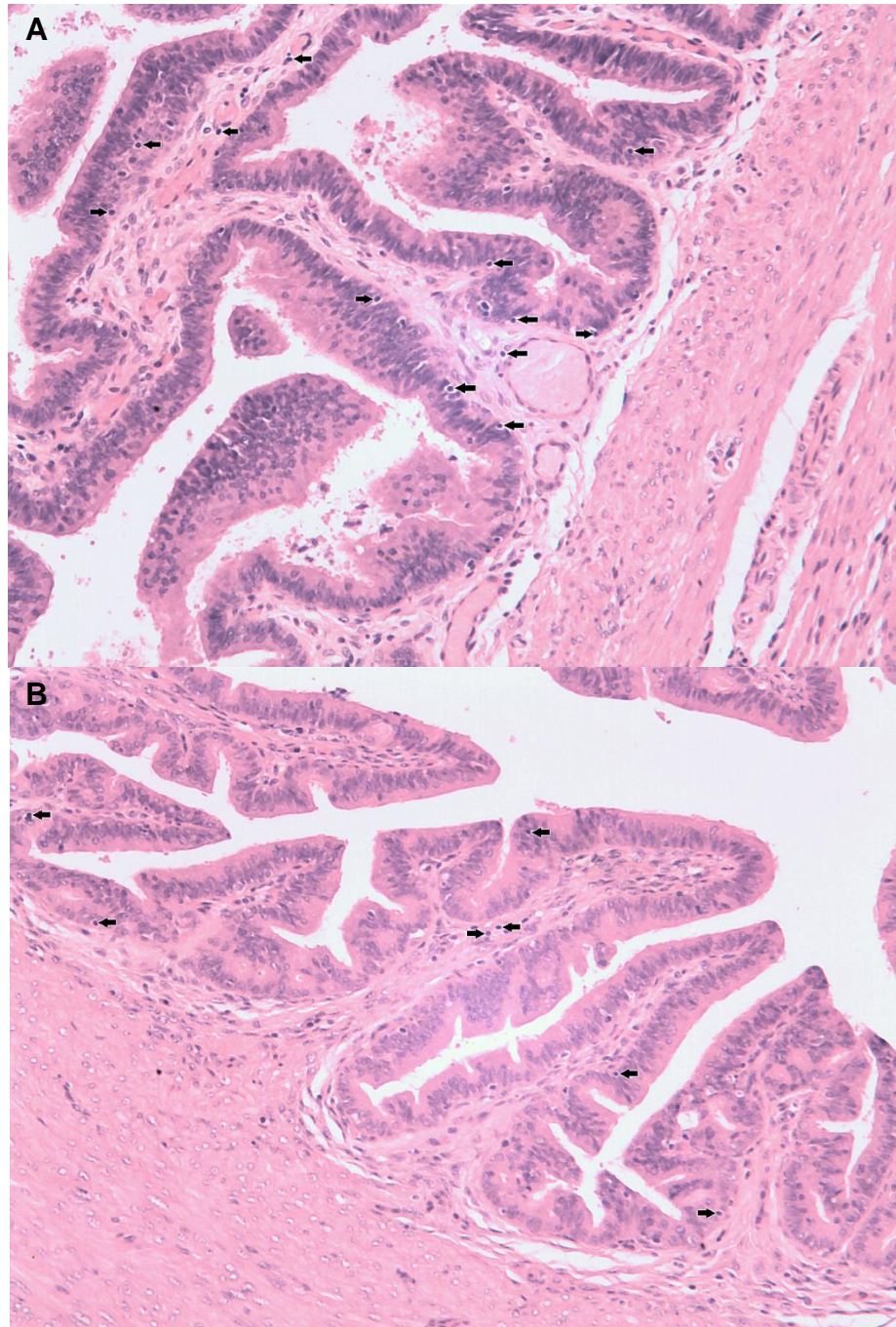


Figura 1: LIE y LLP en AMP (A) y en IST (B) del grupo CX. Tinción H-E.

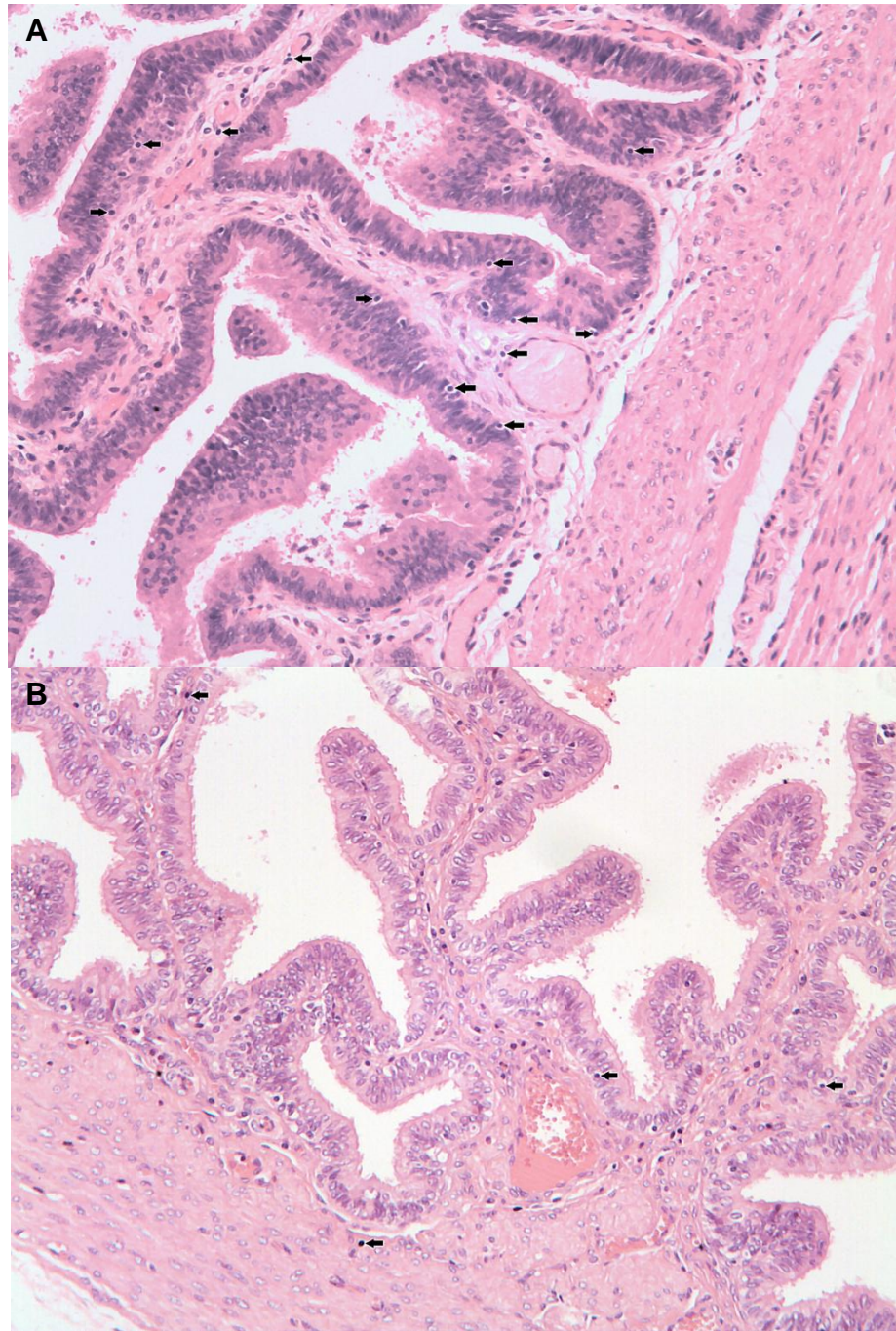


Figura 2: LIE y LLP en AMP del grupo CX (A) y en AMP del grupo M/M (B). Tinción H-E.

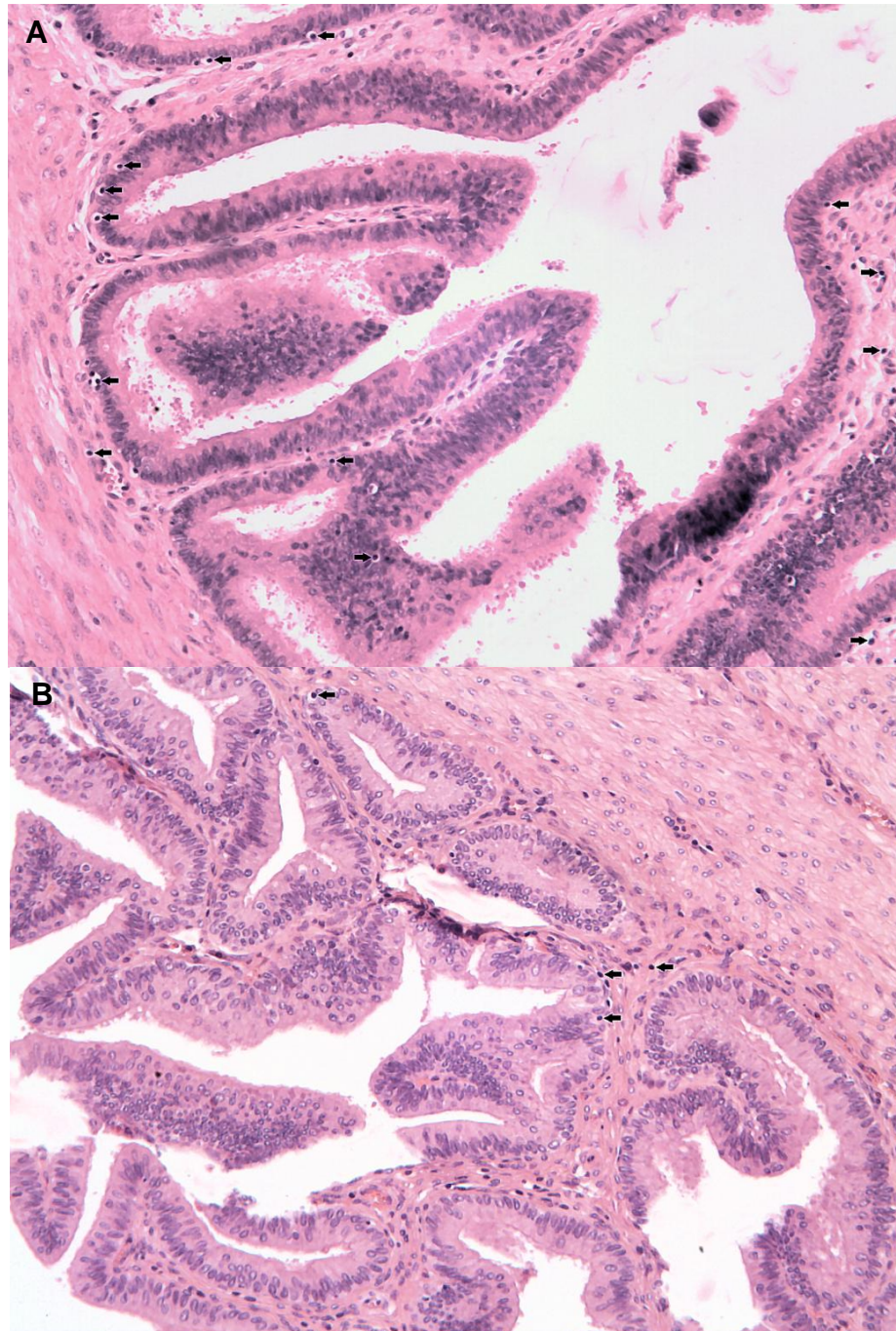


Figura 3: LIE y LLP en UIA del grupo CX (A) y en UIA del grupo M/M (B). Tinción H-E.

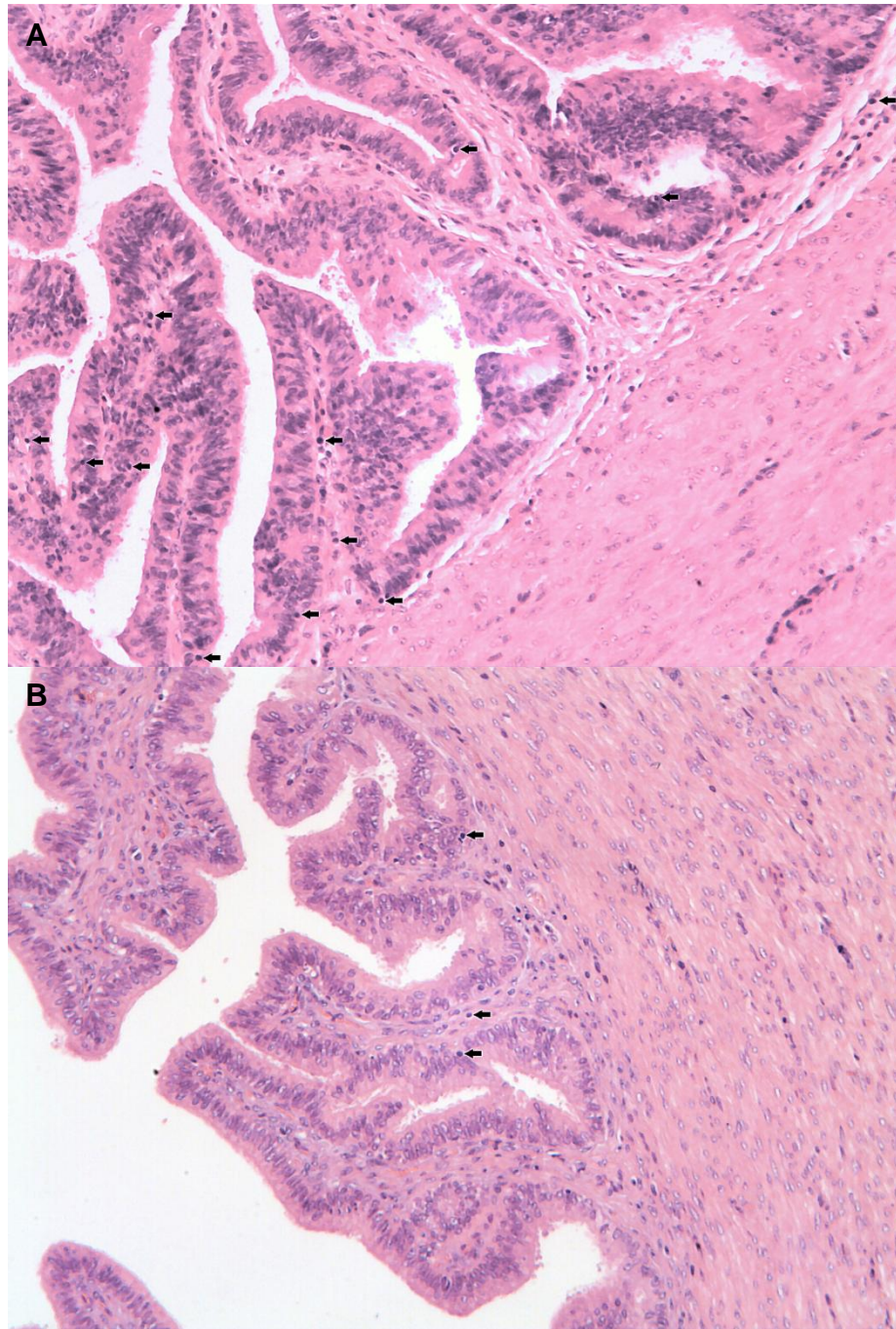


Figura 4: LIE y LLP en IST del grupo PG600 (A) y en IST del grupo M/M (B). Tinción H-E.

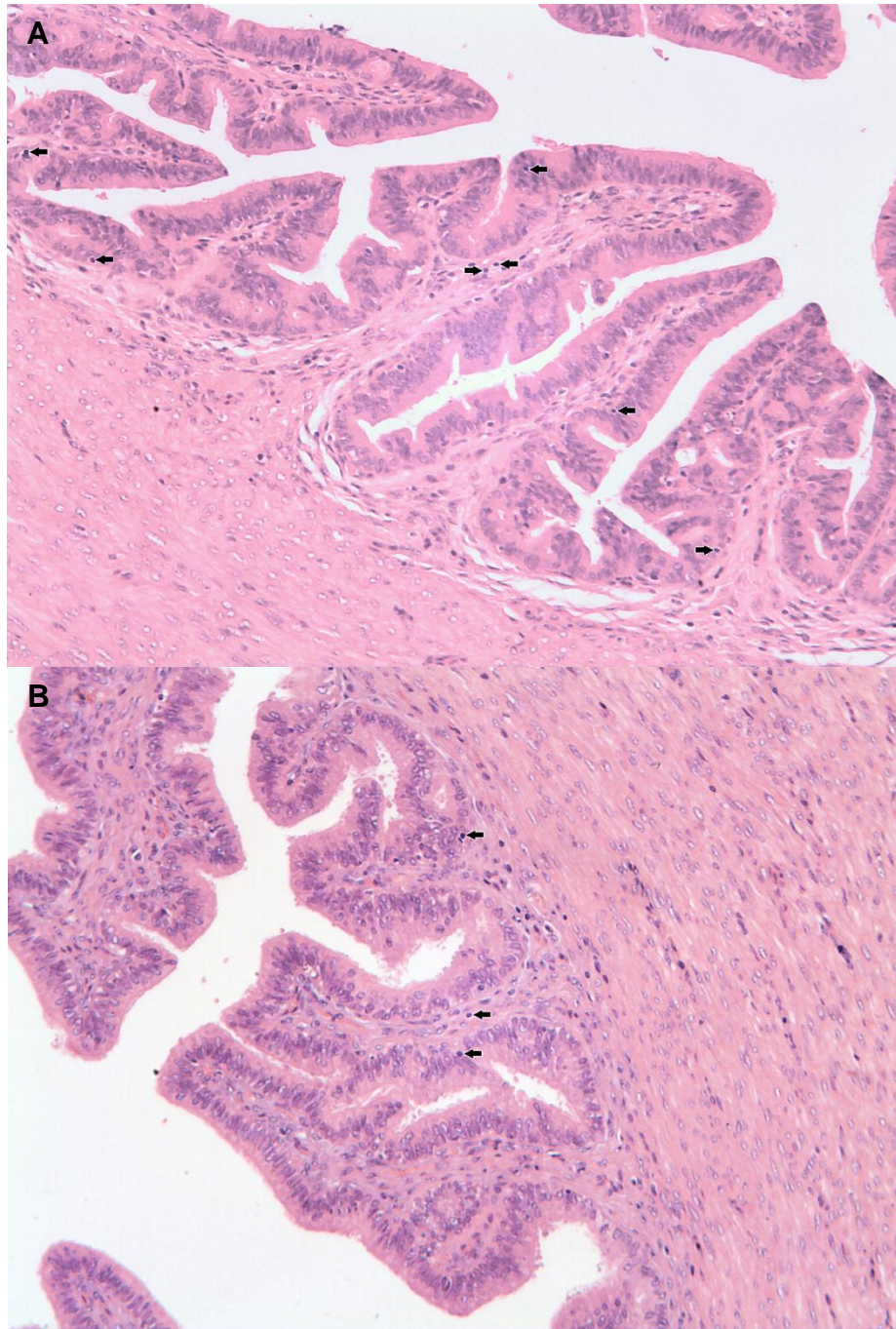


Figura 5: LIE y LLP en IST del grupo CX (A) y en IST del grupo M/M (B). Tinción H-E.