

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**COMPARACIÓN DEL MÉTODO DE CITOLOGÍA VAGINAL EXFOLIATIVA Y
BIOPSIA VAGINAL PARA LA DETERMINACIÓN DE LAS ETAPAS DEL CICLO
ESTRAL EN CERDAS DE REEMPLAZO**

T E S I S

Para obtener el Título de

MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

Presenta:

TANYA ELIZABETH MARQUEZ MORALES

Asesores: Dra. María Elena Trujillo Ortega

MVZ MCV Roxana Mendoza Galicia



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.

DEDICATORIAS

A DIOS

Por permitirme llegar a este momento de mi vida
y darme las herramientas necesarias para
crecer como ser humano y profesionista:

LA VIDA

Por todos los obstaculos que se han presentado
y me han hecho salir adelante con paso firme.

MIS PADRES

A quienes debo lo que soy
y agradezco todos los sacrificios que
realizaron para concluir esta etapa de mi vida.
Llegaremos mas lejos.

MIS ABUELOS

Ejemplo de entereza y perseverancia,
agradezco todo el amor que me han brindado.

BRISIA Y TOÑO

Con los que he crecido de la
mano y me han apoyado a cada instante,
enseñandome la humildad y el valor de la vida.

PAMELA Y JUAN

Por que espero que vengan mejores tiempos y
logren cumplir sus metas, los apoyo.

PACO

Gracias por enseñarme que la vida sin amor
no tiene valor y que debemos luchar por cumplir
nuestros sueños, cuentas conmigo.

LOS AMO...

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México

Que por medio de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia me formo profesionalmente, encomendándome la tarea mas importante, que es la de aplicar mis conocimientos en beneficio de mi país, los animales, así como de la gente que lo necesita y en mi misma, con alegría pero sobre todo con honestidad.

A Granjas Carroll de México

Por su confianza total y apoyo que me fue brindado, por todas las personas que hicieron posible este trabajo, por parte del Departamento de Servicios Técnicos Veterinarios y sitios 15-3A, 14-1 y 11-1.

MVZ MCV Roxana Mendoza Galicia

MVZ Zitlali Tecpa Flores

Claudia Trinidad Gallardo

Alejandro Vazquez Martínez

Pascual Salazar Duran

MVZ Erick Velez Nava

MVZ Manuel Camarillo

Quienes colaboraron de un modo u otro en la persecución de las cerdas, a quienes considero más que compañeros de trabajo, grandes amigos y sin ellos no hubiese sido posible concluir este trabajo.

A Mariana, Alina, Shendel, Oliva, Flaco, Alan, Omar, Luis y Marco

Por aquellos momentos que compartimos a lo largo de la carrera y porque aunque nuestros caminos sean diferentes sabemos que contamos unos con otros.

A Elia, Sol, Cristiam y Juan Carlos

Por compartir conmigo el “mágico” mundo de Perote.

Al MVZ Rubén Alfaro y la MVZ Margarita Baltazar

Por enseñarme a aplicar los conocimientos teóricos adquiridos a lo largo de mi carrera en forma practica, por su apoyo, confianza, pero sobre todo por la amistad que me han brindado y hacerme sentir parte de su familia.

Al honorable jurado:

Dra. Maria Elena Trujillo Ortega

MVZ. Marco Antonio Herradora Lozano

MVZ. Gerardo Ramírez Hernández

MVZ. Manuel Espinosa Pedroza

MVZ. Jorge Hernández Espinosa

Por haber contribuido de forma desinteresada con su crítica constructiva en este trabajo y haberlo finalizado.

ÍNDICE	Páginas
RESUMEN	13
INTRODUCCIÓN	15
II. REVISIÓN DE LITERATURA	
1. Morfología del aparato reproductor de la cerda	17
1.1 Ovarios	17
1.1.1. Folículos ováricos	18
1.2 Oviducto	18
1.3 Útero	20
1.3.1. Mucosa o endométrio	21
1.3.2. Muscular o miométrio	21
1.3.3. Serosa o perimétrio	21
1.4 Cervix	21
1.5 Vagina	22
1.5.1 Túnica mucosa-submucosa	22
1.5.2. Túnica muscular	22
1.5.3. Túnica adventicia o serosa	23
1.6 Vulva	23
1.7 Clítoris	24
2. Modificaciones cíclicas del epitelio vaginal	24
3. Fisiología del aparato reproductor de la cerda	25
3.1 Pubertad de la cerda	25
3.2 Ciclo estral	26
3.2.1 Endocrinología del ciclo estral	27
3.2.1.1. Etapas del ciclo estral	28
3.2.1.1.1 Proestro	29
3.2.1.1.2. Estro	29
3.2.1.1.2.1. Tasa de ovulación	30
3.2.1.1.3. Metaestro	32

3.2.1.1.4. Diestro	32
3.3 Fase folicular	33
3.4 Fase lútea	33
4. Métodos de determinación del estadio reproductivo en cerdas de reemplazo	34
4.1 Citología Vaginal Exfoliativa	34
4.1.1 Células basales o germinales	35
4.1.2 Células intermedias	36
4.1.3 Células superficiales	36
4.1.4 Escamas	36
4.2 Técnica	37
4.2.1 Toma de muestra	37
4.2.2 Fijación	37
4.2.3 Tinción de Papanicolau modificada	38
4.2.4 Observación al microscopio	38
4.3 Biopsia Vaginal Exfoliativa	39
4.3.1 Toma de muestra	39
4.3.2 Fijación de tejidos	39
4.3.3 Procesamiento de tejidos	39
4.3.4 Inclusión en parafina	40
4.3.4.1 Material para inclusión en parafina	40
4.3.5 Proceso	41
4.3.6 Tinción hematoxilina y eosina	41
4.3.7 Medios de montaje	42
4.3.8 Observación al microscopio	42
III. JUSTIFICACIÓN	43
IV. OBJETIVO GENERAL	44
V. OBJETIVO ESPECÍFICO	45
VI. HIPÓTESIS	46
VII. MATERIAL Y MÉTODOS	47
6.1 Localización Geográfica	47

6.2 Animales Experimentales	47
6.3 Procedimientos	48
VIII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	50
IX. RESULTADOS	51
X. DISCUSIÓN	53
XI. CONCLUSIONES	57
XII. CUADROS, GRÁFICAS E IMÁGENES	58
XIII. ANEXOS	80
XIV. LITERATURA CITADA	85

ÍNDICE DE CUADROS, GRÁFICAS E IMÁGENES

CUADROS	Página
Cuadro 1. Algunas dimensiones y características del ovario.	58
Cuadro 2. Características de los folículos ováricos.	59
Cuadro 3. Características de las estructuras no foliculares de los ovarios.	61
Cuadro 4. Dimensiones del útero en la cerda.	62
Cuadro 5. Características histológicas del epitelio vaginal a lo largo del ciclo estral.	63
Cuadro 6. Características de las etapas del ciclo estral.	64
Cuadro 7. Hormonas involucradas en la reproducción de la cerda y su función.	65
Cuadro 8. Número de cerdas en las diferentes etapas del ciclo estral (fase 1).	67
Cuadro 9. Número de cerdas en las diferentes etapas del ciclo estral (fase 2).	68

GRÁFICAS E IMÁGENES DE RESULTADOS	Página
Gráfica 1. Número de cerdas detectadas en las diferentes etapas del ciclo estral mediante citología vaginal exfoliativa.	69
Gráfica 2. Número de cerdas detectadas en las diferentes etapas del ciclo estral mediante biopsia vaginal.	69
Gráfica 3. Comparación de ambos métodos (citología vaginal exfoliativa y biopsia vaginal) en la diferenciación de las etapas del ciclo estral.	70
Gráfica 4. Comparación del número de cerdas de diferentes edades detectadas en diestro mediante citología vaginal exfoliativa.	71
Gráfica 5. Comparación del número de cerdas de diferentes edades detectadas en metaestro mediante citología vaginal exfoliativa.	71
Gráfica 6. Comparación del número de cerdas de diferentes edades detectadas en proestro mediante citología vaginal exfoliativa.	72
Gráfica 7. Comparación del número de cerdas de diferentes edades detectadas en estro mediante cito-	72

logía vaginal exfoliativa.

IMÁGENES CITOLOGIA VAGINAL EXFOLIATIVA	Página
Imagen 1. Microfotografía de células basales. Tinción Papanicolau, características del diestro, 400X.	73
Imagen 2. Microfotografía de células basales. Tinción Papanicolau, características del diestro, 400X.	73
Imagen 3. Microfotografía de células intermedias (1) y superficiales (2), teñidas con Papanicolau, características del proestro, 400X.	74
Imagen 4. Microfotografía de células intermedias (1), superficiales (2) y leucocitos (3), teñidas con Papanicolau, características del proestro, 400X.	74
Imagen 5. Microfotografía de células intermedias teñidas con Papanicolau, características del estro, 400X.	75
Imagen 6. Microfotografía de células intermedias, teñidas con Papanicolau, características del estro, 400X.	75
Imagen 7. Microfotografía de células superficiales, teñidas con Papanicolau, características de estro, 400X.	76

Imágen 8. Microfotografía de células superficiales teñidas con Papanicolau, características de estro,400X.	77
Imágen 9. Microfotografía de escamas, teñidas con Papanicolau, características de metaestro, 400X.	77
Imágen 10. Microfotografía de escamas, teñidas con Papanicolau, características de metaestro, 400X.	77

IMÁGENES BIOPSIA VAGINAL	Página
---------------------------------	---------------

Imágen 11. Microfotografía de un corte de epitelio vaginal teñido con hematoxilina y eosina, de la etapa de diestro, 400X.	78
Imágen 12. Microfotografía de un corte de epitelio vaginal, teñido con hematoxilina y eosina de la etapa de mestaestro, 400X.	78
Imágen 13. Microfotografía de un corte de epitelio vaginal, teñido con hematoxilina y eosina de la etapa de proestro, 400X.	79
Imágen 14. Microfotografía de un corte de epitelio vaginal, teñido con hematoxilina y eosina de la etapa de estro, 400X.	79

RESÚMEN

Márquez Morales Tanya Elizabeth: **COMPARACIÓN DEL MÉTODO DE CITOLOGÍA VAGINAL EXFOLIATIVA Y BIOPSIA VAGINAL PARA LA DETERMINACIÓN DE LAS ETAPAS DEL CICLO ESTRAL EN CERDAS DE REEMPLAZO** (Bajo la asesoría de la Dra. María Elena Trujillo Ortega y MVZ. MCV. Roxana Mendoza Galicia)

Con el objetivo de evaluar que método (citología vaginal exfoliativa o biopsia vaginal) es más eficaz en la determinación de las etapas del ciclo estral en cerdas de reemplazo, se realizó lo siguiente: fase 1, se contó con 50 cerdas adultas híbridas entre 120 a 220 Kg, a las cuales se les determinó la etapa del ciclo estral en que se encontraban por los métodos biopsia vaginal y citología vaginal exfoliativa, por lo que se realizó una comparación entre ambos métodos logrando obtener con la biopsia vaginal: 9 hembras en diestro equivalente al 18%, 10 hembras en proestro equivalente al 20%, 9 hembras en estro equivalente al 18% y 22 hembras en metaestro equivalente al 44 %, por lo tanto se tienen 19 hembras en la fase folicular equivalentes al 38% y 31 en la fase luteal equivalente al 62% y con el método de citología vaginal exfoliativa se obtuvieron 10 hembras en diestro equivalente al 20%, 13 hembras en proestro equivalente al 26%, 9 hembras en estro equivalente al 18% y 18 hembras en metaestro equivalente al 36%, por lo tanto se tienen 22 hembras en la fase folicular equivalente al 44% y 28 hembras

en la fase luteal equivalente al 56%, por lo que se concluye que ambos métodos son eficaces para determinar las diferentes etapas del ciclo estral sin diferencia estadística ($p>0.05$).

En la fase 2 se contó con 180 cerdas híbridas de diferentes edades divididas en grupos de 30 cerdas cada uno, a las cuales se les determinó la fase del ciclo estral en la que se encontraban mediante citología vaginal exfoliativa, identificando en la fase folicular 93 hembras que equivale al 51% y 87 hembras en la fase luteal equivalente al 48%, por lo que se concluye que la citología vaginal exfoliativa es una herramienta útil, rápida, practica y no traumática para la cerda que nos ayuda a determinar la actividad folicular y la presencia de la pubertad a los 203 a 210 días de edad.

I. INTRODUCCIÓN

La porcicultura ha experimentado cambios importantes en los últimos años debido a la globalización de las economías. La apertura de las fronteras por medio de la firma de diversos tratados de libre comercio con países del norte del continente, ha permitido que entre cerdo en pie y en canal a los países de América Latina de otras partes del mundo (1), por lo cual es importante mejorar y eficientar los sistemas de producción para que se logre competir con dichos países.

El propósito productivo de los cerdos domésticos ha cambiado con el transcurrir de los años, de ser productores de doble propósito de manteca y carne a solo productores de carne, esto trae consigo cambios en el material genético (2), en la nutrición, en la sanidad y en el manejo reproductivo, es este punto de especial interés ya que desempeña un papel importante dentro de la porcicultura.

Las cerdas primerizas representan entre el 30 y 40% del hato reproductor de la granja, cabe señalar que la introducción del nuevo pie de cría se debe considerar escrupulosamente ya que puede tener efectos de gran trascendencia sobre la salud, rendimiento y utilidad de la piara (3).

Uno de los problemas reproductivos con mayor frecuencia en dichas hembras es la presentación de anestros (2,4), siendo un problema común la falla en la detección del estro por parte del personal, esto se ha demostrado en el rastro donde cerdas desechadas por anestro, el 60% de ellas realmente no lo estaban, inclusive el 30% estaban gestantes y el resto presentaban ovarios con actividad folicular (2).

La detección correcta del estro en el caso de las hembras primerizas se dificulta ya que se desconoce el momento en que se alcanza la pubertad, sin embargo en general se recomienda la utilización de machos para la detección y/o la visualización de los signos del estro dos veces al día (2).

Se han implementado diversas formas para detectar el estro en cerdas, tal es el caso de la observación de éstas por parte del personal, la exposición a machos

vasectomizados, la utilización del ultrasonido y la biopsia vaginal; sin embargo, como ya se mencionó no son métodos 100% confiables, esto trae como consecuencia que muchas cerdas que debieran ser desechadas por deficiencias en su rendimiento, sean mantenidas en la granja (3). La biopsia vaginal es un método utilizado con el propósito de determinar las características histológicas diferenciales en las diversas etapas del ciclo estral (5,6,7,8), ésta consiste en obtener una muestra de la mucosa vaginal (9) con la ayuda de un sacabocados (10), dicha muestra es procesada por inclusión en parafina y teñida mediante la tinción de hematoxilina–eosina, para posteriormente ser observada al microscopio e identificar las capas histológicas, sin embargo, cabe señalar que este método es: traumático (invasivo), se requiere material quirúrgico, es de alto costo y además de requerir por lo menos 48 horas, para emitir un diagnóstico (11), por lo que otro método que puede ser eficaz es la citología vaginal exfoliativa procesada bajo la tinción de Papanicolau (11).

III JUSTIFICACIÓN

Debido a la incertidumbre con respecto al tiempo en que las cerdas de reemplazo alcanzan su pubertad y tomando en consideración que algunas pueden resultar estériles, a menudo se toma un amplio margen de seguridad en cuanto al número de cerdas primerizas retenidas para reproducción. Esto trae como consecuencia que muchas cerdas adultas que debieran ser desechadas por deficiencias en su rendimiento, sean mantenidas en la granja (3). De igual forma la determinación de las diferentes etapas del ciclo estral dentro de una piara es importante desde el punto de vista reproductivo ya que puede ser un instrumento eficaz en la aplicación oportuna de productos hormonales.

II REVISIÓN DE LITERATURA

Siendo que la eficiencia reproductiva de la cerda se evalúa con base en el número de lechones nacidos vivos y los días de ciclo de la cerda, es necesario tomar en cuenta los diferentes factores que determinan dicha eficiencia por lo que a continuación se analizarán:

1. MORFOLOGÍA DEL APARATO REPRODUCTOR DE LA CERDA

El aparato reproductor de la cerda está compuesto de los siguientes órganos:

ovarios, oviductos, útero, cervix, vagina y vulva (12, 13, 14, 15).

1.1 OVARIOS

Los ovarios son un par de órganos ovoides ligeramente aplanados de 3 cm. de longitud, 1.5 cm. de ancho y 1 cm. de espesor, son de forma irregular característica dada por la presencia de un gran número de folículos y cuerpos lúteos haciendo protrusión en su superficie. Se encuentran suspendidos por el ligamento ancho del útero, en un pliegue del peritoneo denominado meso-ovario (28) y se ubican detrás de los riñones (13, 14), posee funciones gametogénica y endocrina. Estas funciones son complementarias, interdependientes y necesarias para el éxito de la reproducción (15). Los ovarios funcionales de los animales polítricos (cerda, coneja, perra o gata) tienen varios folículos y/o cuerpos lúteos con la apariencia de un racimo de uvas (Cuadro 1) (13, 14, 15, 16).

Histológicamente el ovario es una estructura ovoide conformados por dos regiones: una cortical y la medular; la primera es la zona externa que contiene los folículos ováricos en desarrollo, maduros, atrésicos y los cuerpos lúteos. Mientras que la región medular contiene numerosos vasos sanguíneos, nervios y vasos linfáticos así como regular cantidad de tejido conjuntivo ordinario laxo (2, 15, 17).

1.1.1 Folículos Ováricos

En el ovario se pueden observar folículos primordiales (reposo) y los folículos en desarrollo (folículos primarios, secundarios y terciarios). Durante el ciclo estral, varios folículos ováricos sufren cambios que conducen a la ovulación durante el estro (18).

En el cuadro 2 se describen las características de los folículos ováricos.

Otras estructuras encontradas en los ovarios son las no foliculares descritas en el cuadro 3.

1.2 OVIDUCTOS

Son dos extensiones del útero de aproximadamente 5-8 cm. de longitud (13).

Microscópicamente, esta estructura se subdivide en infundíbulo, ámpula e istmo (13,14 y 19).

El infundíbulo es la porción adyacente al ovario, y a partir de este se proyecta la fimbria, que está formada por prolongaciones digitiformes que tienen como finalidad la captura del óvulo. El ámpula es una dilatación del oviducto que se extiende desde el infundíbulo hasta el istmo, su pared es delgada y el diámetro de

su luz es grande. En ella se lleva a cabo la fertilización (14). El istmo es la parte del oviducto que se comunica con el útero, y se caracteriza por presentar una pared ancha y una luz reducida (14, 15) para con ello facilitar el transporte de los gametos masculinos.

Entre las principales funciones de los oviductos están: (14, 15)

1. Transporte de gametos (masculino y femenino).
2. Sitio donde se inicia la capacitación espermática.
3. Proporciona el medio óptimo para la fecundación.
4. Aloja al óvulo fecundado durante las primeras etapas de su desarrollo antes de que llegue al útero, donde deberá implantarse.

Histológicamente se divide en 4 segmentos, algunos de los cuales no tienen límites precisos, el primer segmento llamado intramural, se localiza en el interior de la pared uterina. El segundo o istmo esta formado por el tercio de la trompa adyacente al útero. El tercero es la ampolla, que se distingue del istmo por ser mas dilatada. El cuarto se llama infundíbulo, tiene la forma de embudo y se localiza cerca del ovario (19, 20).

La pared del oviducto esta formada por una capa mucosa, una muscular y una serosa, esta representada por el peritoneo.

La mucosa tiene numerosos pliegues longitudinales que son largos y ramificados al nivel de la ampolla (20).

1.3 ÚTERO

Consta de un cuerpo y dos cuernos uterinos, su pared esta dividida en tres regiones: endometrio, miometrio y perimetrio. La morfología del útero cambia en sincronía con el ciclo estral (14, 15).

El cuerpo del útero es corto, sin embargo es el lugar donde inicia el transporte de gametos y la implantación de los blastocistos. Los cuernos uterinos se continúan hacia delante a lo largo de unos pocos centímetros sin un revestimiento común de musculatura de disposición longitudinal, produciendo la impresión de que el cuerpo uterino es mas largo de lo que en realidad es. La capa muscular circular, dispuesta profundamente en la unión del cuerpo con los cuernos, forma un complejo esfínter que actúa de tal manera que cuando la entrada a uno de los cuernos esta cerrada, la del otro esta abierta (13).

Los cuernos están situados cranealmente a la entrada de la pelvis, a medio camino entre el techo y el suelo de la cavidad abdominal, y están suspendidos por ligamentos anchos.

Las dimensiones del útero varían de acuerdo a la etapa fisiológica en la que se encuentre la cerda (Cuadro 4).

Es el lugar de implantación del feto y de sus envolturas; y experimenta una definida sucesión de cambios durante el ciclo estral.

Histológicamente la pared uterina consta de tres capas:

1.3.1. Mucosa o Endometrio; formado por un epitelio pseudo-estratificado columnar, aunque en algunas zonas aisladas del epitelio puede ser cúbico simple. La lámina propia también forma parte del endometrio, y esta formada por tejido conjuntivo laxo areolar, en el cual pueden identificarse células como eosinófilos, macrófagos, linfocitos, neutrófilos y células cebadas. En la lámina propia submucosa se encuentran las glándulas tubulares revestidas por epitelio cilíndrico simple (12, 19).

1.3.2. Muscular o Miometrio; consta de: 1) una capa circular adyacente a la mucosa, que se denomina submucosa, 2) una capa intermedia con fibras oblicuas en varias direcciones, donde existen grandes vasos sanguíneos, llamada capa vascular (12, 19).

1.3.3. Serosa o Perimetrio; consta de tejido conjuntivo laxo areolar recubierto de mesotelio peritoneal (12, 19).

1.4 CERVIX

Es la porción caudal del útero, se proyecta dentro de la cavidad de la vagina, actuando como un esfínter que evita la entrada de gérmenes a la luz uterina (14).

Pueden distinguirse dos porciones: el endocervix; localizado hacia la luz del cuerpo uterino y el exocervix; localizado hacia la luz de la vagina, es posible distinguir las características de la mucosa: el endocervix presenta epitelio de revestimiento que es cilíndrico simple, con células secretoras de moco, mientras

que en el exocervix el epitelio es estratificado plano sin queratina, que corresponde al mismo epitelio de la vagina (4, 14).

La presencia de hileras de prominencias de la mucosa que se proyectan hacia la luz y engranan perfectamente unos con otros para ocluir el canal cervical (13), sirve como válvula para cerrar el lumen uterino y separarlo de la vagina. Su actividad secretora varía con los estadios del ciclo estral y la gestación. Durante el estro se secreta moco claro y durante la preñez se produce un material sellador cervical espeso (15).

Histológicamente tiene una pared gruesa, muscular rica en fibras elásticas. La mucosa forma altos pliegues primarios con pliegues secundarios y terciarios, Su epitelio es de tipo simple cilíndrico con células productoras de moco y células caliciformes. En la cerda, más del 90% del cervix puede tener un tipo de mucosa vaginal con epitelio escamoso estratificado que sufre las mismas transformaciones cíclicas que el de la vagina (12).

La lámina propia consta de un tejido conjuntivo denso e irregular, que durante el estro, sufre edema y adquiere una estructura areolar laxa (12).

1.5 VAGINA

Órgano tubular entre el cervix y la vulva (3, 14). Este órgano es importante por la doble función que ejecuta, es decir sirve tanto para el aparato reproductor como para el urinario, es un órgano que reacciona a diversas hormonas, ejemplo de ello es el ciclo estral de la cerda, donde se observan variaciones en el ciclo

dependiendo de la fase en la que se encuentre. Por ejemplo en la fase lútea (metaestro y diestro) presenta solo de 4 a 6 estratos celulares, pero en la fase folicular se incrementa pudiendo mostrar más de 12 capas durante el estro.

Este órgano tiene la cualidad de distenderse, lo cual es propicio durante el coito y el parto.

Histológicamente, es un tubo muscular que se extiende desde el cuello hasta el vestíbulo. Tiene tres capas: (12, 15, 19, 20, 22).

1.5.1. *Túnica mucosa-submucosa*; tiene un epitelio plano estratificado no queratinizado (9,15, 19, 20, 22).

1.5.2. *Túnica muscular*, presentan fibras musculares con disposición circular y longitudinal entremezcladas (9, 12, 15, 19, 20).

1.5.3. *Túnica adventicia o serosa*; consta de tejido conjuntivo laxo y contiene grandes vasos sanguíneos, nervios y ganglios nerviosos (9, 12, 15, 19, 20, 23).

1.6 VULVA

Presenta labios vulvares, con epitelio estratificado, éste órgano al igual que la vagina reacciona a los niveles sanguíneos de estrógenos. Están cubiertos por piel, abundante en glándulas apocrinas y sebáceas. En la hipodermis podemos observar fibras musculares estriadas del músculo constrictor de la vulva. Los labios están provistos de pequeños vasos sanguíneos y linfáticos que se congestionan durante el estro (12, 15, 19, 20, 22).

1.7 CLÍTORIS

Está formado conjuntamente por el cuerpo cavernoso eréctil del clítoris, un rudimentario glándula del clítoris y un prepucio del clítoris, la cerda tiene una cubierta de tejido fibro-elástico no eréctil. El clítoris posee un gran número de linfonodos y terminaciones nerviosas tanto sensoriales como autónomas (12).

2. MODIFICACIONES CÍCLICAS DEL EPITELIO VAGINAL

Las modificaciones celulares que se presentan en el epitelio vaginal son de utilidad zootécnica y su importancia radica en la estimación del momento del estro y el diagnóstico de la gestación.

Las modificaciones celulares se presentan principalmente en relación al estado endocrino y fisiológico de la cerda. Durante el ciclo estral es posible distinguir las cuatro etapas o fases del mismo ya sea por biopsia vaginal o citología exfoliativa. Estos cambios obedecen a la presencia o ausencia de progesterona o estrógenos, principalmente. En presencia de progesterona el epitelio se reduce, siendo este de no más de seis capas celulares lo contrario sucede durante la presencia de altos niveles de estrógenos observándose más de 12 estratos celulares (12).

El recubrimiento epitelial de la vagina es delgado en el anestro, con tan solo 2 ó 3 capas de células; prolifera durante el proestro y puede tener de 12 a 20 capas celulares de grosor al principio del estro, con queratinización en las capas de la superficie (12).

En el cuadro 5 se describen las características histológicas del epitelio vaginal a lo largo del ciclo estral.

3. FISIOLOGÍA DEL APARATO REPRODUCTOR DE LA CERDA

3.1 PUBERTAD DE LA CERDA

Es el momento en que los órganos reproductivos maduran y puede llevarse a cabo la reproducción. En el macho se caracteriza por la capacidad de copular y eyacular, en la hembra por la aparición del estro y la ovulación (24). Esta es el resultado de ajustes graduales entre el incremento de la actividad gonadotropina y la capacidad de las gónadas para iniciar en forma simultánea la gametogénesis y la esteroidogénesis (25).

La pubertad ocurre en la hembra joven llamada de reemplazo o nulípara, aproximadamente a los 150 – 180 días de edad cuando la cerda alcanza un peso corporal superior a los 75 Kg. (12), cualquier retraso en la manifestación de esta modifica los programas de reproducción de la granja (17, 25).

Durante el periodo prepuberal los ovarios contienen un sinnúmero de folículos pequeños (2 a 4 mm de diámetro) y varios más grandes (8 a 15 mm). El útero responde al incremento de la actividad esteroidogénica ovárica durante las últimas etapas de dicho periodo, incrementando su tamaño, ocurren cambios graduales en el metabolismo y en la sensibilidad a los esteroides y a las gonadotropinas. El útero, por ejemplo, se torna sensible a los esteroides circundantes y aumenta de

peso gradualmente, de 30–60 g que tenía a 150 o inclusive 250 g de peso que llega a pesar cerca del inicio de la pubertad, también aumenta su tamaño de 20 cm. que mide a los 20 a 100 días de edad, a los 100 cm. a los 180 días de edad, siendo similar el desarrollo de los ovarios, mismos que pueden alcanzar un peso de 12 g a los 180 días (25).

La cerda primeriza, no es sensible a gonadotropinas exógenas antes de los 100 días de edad, pero entre los 120 y 180 días, esta sensibilidad es evidente, y es el periodo en que algunos autores han administrado gonadotropinas, acelerando con ello la presentación de la pubertad, sin embargo, en ningún caso ha sido posible que la cerda quede gestante (25).

Diversos factores influyen en el inicio de la pubertad en la cerda joven y en los siguientes ciclos estrales, entre los más importantes se incluyen la línea genética, los factores ambientales, de alojamiento, farmacológicos (24), nutrición y salud en general (14, 15).

3.2 CICLO ESTRAL

En la hembra se desarrolla un patrón rítmico de acontecimientos fisiológicos, que inducen cambios morfológicos detectables en el sistema reproductor y cambios en la conducta animal. Estos cambios fisiológicos y de conducta son cíclicos y repetitivos (26) y que, por lo que respecta a su presencia en función de tiempo, son gobernados por las hormonas gonadotroficas de la hipófisis y, también por

influjos locales del útero (26), la secuencia de acontecimientos que ocurren entre dos estros sucesivos por convención se denomina ciclo del estro (15). Este tiene como finalidad preparar las condiciones para que ocurra la monta, la fertilización, la nidación y el desarrollo del feto. La cerda presenta ciclos estrales a lo largo del año, y sólo son interrumpidos por la gestación y los primeros 30 días de lactancia. Algunas alteraciones endocrinas también inhiben su presentación (24).

3.2.1. Endocrinología del Ciclo Estral

Los diversos tipos de folículos y estructuras transitorias son la expresión morfológica de la acción de diversas hormonas que actúan sobre la gónada femenina, regulándola en forma cíclica.

Las hormonas que actúan sobre el desarrollo folicular son la hormona FSH (hormona folículo estimulante) y la LH (hormona luteinizante). Estas hormonas son producidas y liberadas en la hipófisis por lo que se conocen con el nombre de gonadotropinas hipofisarias. Esto se lleva a cabo después de la pubertad y hasta que termina la vida fértil de la hembra (21, 25, 27, 35).

La FSH actúa sobre determinado número de folículos primordiales, promoviendo su desarrollo y crecimiento. La LH es la encargada de la maduración final del folículo y es indispensable para que se realice la ovulación, por lo que el momento adecuado del ciclo se produce un pico ovulatorio de esta hormona (21, 25, 27, 35).

Se ha observado que la FSH induce la formación de receptores celulares para LH en las células de la granulosa y las tecas, para que, cuando se eleven los niveles

hormonales de LH, antes de la ovulación, las células responden, favoreciendo con ello la maduración folicular y la ovulación (21, 25, 27, 35).

En respuesta a los cambios de concentración de FHS y LH durante el ciclo estral, los ovarios producen estrógenos y progesterona. Estrógenos es el nombre genérico de tres hormonas esteroides: estradiol, estriol y estrona, la primera de ellas es la mas abundante e importante (21, 25, 27, 35).

Las células que forman la teca interna de los foliculos en desarrollo secretan andrógenos, los cuales pasan a las células de la granulosa, donde se transformaron en estrógenos. Los estrógenos son los principales responsables de que la hembra acepte al macho durante el estro, además, participan con otras hormonas en el crecimiento de los conductos de la glándula mamaria y favorecen el aumento del numero de células ciliadas del oviducto (cilogénesis) que participan en el transporte del óvulo (21, 25, 27, 35).

La progesterona es producida fundamentalmente por el cuerpo lúteo, y los niveles sanguíneos de esta hormona se elevan después de la ovulación. La progesterona es indispensable para el mantenimiento de la gestación, ya que inhibe las contracciones uterinas, favorece el crecimiento y secreción de las glándulas endometriales y participa en el crecimiento de ductos y tejido alveolar de la glándula mamaria (21, 25, 27, 35).

3.2.2.1. Etapas del Ciclo Estral

El ciclo estral de la cerda dura en promedio 21 días (variación de 18 a 24 días), pueden identificarse cuatro etapas: proestro, estro, metaestro y diestro.

3.2.2.1.1. Proestro

Esta etapa dura de 2 a 3 días, en esta etapa se lleva a cabo el proceso de crecimiento y maduración folicular (14) e inicia la regresión del cuerpo lúteo del ciclo previo (25).

Exteriormente esta etapa se caracteriza por un enrojecimiento y tumefacción de los labios vulvares, acompañados por variaciones en el comportamiento de la cerda, que se torna inquieta y deseosa de montar a otras cerdas (14).

Esta caracterizado por la aceleración del crecimiento folicular bajo la influencia de la FSH. Los folículos secretan estrógeno, que a su vez influye en los órganos genitales. El aumento en las concentraciones de estrógeno suprime las concentraciones en declive de la progesterona (24, 26).

3.2.2.1.2. Estro

Tiene una duración de 2 a 3 días, se define como el periodo de receptividad sexual, durante el cual ocurren el apareamiento (3, 6, 9, 15, 17, 28,14 ,29).

Durante esta etapa ocurre la maduración final de los folículos, los cuales alcanzan su máximo nivel esteroidogénico, produciéndose un pico preovulatorio de estrógenos, que desencadenan dos acciones estrechamente ligadas entre si:

1. La entrada de la cerda al estro y,

2. La ovulación, la cual se produce debido a que los estrógenos estimulan al hipotálamo, el cual reacciona con un pico de secreción de GnRH. (hormona liberadora de gonadotropinas) que, a su vez, provoca una descarga hipofisiaria de LH hormona responsable del desencadenamiento de la ovulación (25), esta ocurre a las 36 horas de iniciado el estro y dura 4 horas aproximadamente.

Durante esta etapa la vagina de la cerda responde a la alta concentración de estrógenos con un engrosamiento del epitelio, el cual alcanza un espesor de 12 a 13 capas, aunque algunas veces pueden llegar a observarse hasta 20 capas. Ocasionalmente se observan algunas células cornificadas en las capas superficiales del epitelio y, en el estrato germinativo, algunos leucocitos intraepiteliales (25, 27).

3.2.2.1.2.1 Tasa de Ovulación

Dentro de la reproducción es sumamente importante el número de crías obtenidas y esto está relacionado en gran medida con la tasa ovulatoria (24, 36).

La tasa de ovulación en la cerda se ve afectada por diversos factores como son: la línea genética, el número de parto, la alimentación y la estimulación exógena, la cual puede ser por manejo u hormonal, por lo que puede depender de:

1. Desarrollo de la cerda, durante el celo puberal la cerda produce entre 8 y 10 óvulos, y en la cerda adulta se producen de 14 a 20 (24, 25, 27, 36).

2. Número de parto, en lo que respecta a este se ha observado que la tasa de ovulación se incrementa conforme avanza el número de parto, observándose que a partir del parto 3, se tienen la tasa de ovulación mayor (25, 27, 36).
3. Genética, el número de óvulos liberados es heredable (24).
4. Línea Genética, en este caso, diversos estudios han reportado que las cerdas de líneas genéticas blancas como son la Yorkshire o Landrace tienen una tasa de ovulación mayor que las razas oscuras como la Duroc y la Hampshire (25, 27, 30).
5. Además se ha observado que la homocigosis disminuye la ovulación en comparación con la heterosis (25, 27, 30).
6. Consanguinidad, reduce la tasa ovulatoria.
7. Alimentación, en lo que corresponde a la alimentación, en las décadas de los años 60's y 70's, diversos investigadores reportaron que existía una correlación entre los niveles energéticos y la tasa de ovulación (25,27). Este efecto se observa sobre todo en las cerdas jóvenes, es decir, de reemplazo o bien en las cerdas que presentan una pobre condición corporal (25,27).
8. Clima, las altas temperaturas pueden reducir la tasa ovulatoria.
9. La estimulación exógena por manejo, es una de las más utilizadas en las granjas, siendo esta ya sea con la estimulación con la presencia de machos (lo cual da resultados con mucha variación) o bien con el uso de diversas

instalaciones es decir, se ha reportado que las cerdas alojadas en corral o pastoreo presentan una mayor tasa de ovulación que las cerdas alojadas en jaula.

Con base en lo anterior, el rango de ovulación en las cerdas es de 13 – 25 óvulos.

3.2.2.1.3. Metaestro

Esta etapa dura de 7 a 8 días y en ella tiene lugar el desarrollo del cuerpo lúteo, el cual es destruido por la presencia de PGF2 alfa de origen uterino, en caso de no quedar gestante la cerda, de lo contrario permanecería hasta el final de la gestación (25, 27).

Al inicio del metaestro se puede observar la cornificación de las capas superficiales del epitelio vaginal, seguido por la descamación del epitelio cornificado hasta que el número de capas de células epiteliales declina y llega a solo 3 a 6 (25, 27).

3.2.2.1.4 Diestro

Es la fase del ciclo durante la cual el cuerpo lúteo se desarrolla de manera total y los órganos reproductores se encuentran bajo la influencia de la progesterona (14, 24). Tiene una duración de 6 a 10 días cuando no ha ocurrido la concepción, en cuyo caso el cuerpo lúteo es destruido por la liberación de PGF2 alfa de origen uterino. En cambio, en el caso de ocurrir la fecundación los cuerpos lúteos permanecen en los ovarios hasta el final de la gestación (17, 14, 25, 26, 27).

En el cuadro 6 se describen algunas características de las etapas del ciclo estral.

Por otra parte, en referencia al funcionamiento ovárico, el ciclo estral puede dividirse en dos fases:

1. Fase Folicular
2. Fase Lútea

3.3 Fase Folicular

Esta fase engloba el proestro y estro, tiene una duración de 5 a 6 días, durante esta etapa se desarrollan los folículos primarios hasta la ovulación, momento en el que culmina esta etapa.

Se caracteriza por la presencia de altos niveles de estrógenos y de la hormona folículo estimulante. En el caso de la primera tiene la función de estimular al hipotálamo para la producción de GnRH para que éste a su vez estimule a la hipófisis en la producción de FSH, la cual estimulará a los folículos primarios para llevarlos hasta la condición de folículos terciarios. Otra función de los estrógenos es la signología de estro (24).

3.4 Fase Lútea

También conocida como progestacional dura de 14 a 15 días y es en esta en la que los cuerpos lúteos se desarrollan, se sitúa entre la formación del antro y la ovulación. Esta fase corresponde al metaestro y diestro (25, 27).

Se ha observado que en el desarrollo de los folículos preovulatorios, antes mencionados, se pueden distinguir 2 etapas:

1. La primera va desde el comienzo del crecimiento folicular hasta la etapa preantral, sus mecanismos están poco aclarados.
2. La segunda se sitúa entre la formación del antro y la ovulación. Se estima que su duración es de 16 días y comienza durante la fase lútea del ciclo previo, cuando los folículos tienen un crecimiento lento.

4. MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DEL ESTADÍO REPRODUCTIVO EN CERDAS DE REEMPLAZO

Dentro de los métodos para la determinación del estado reproductivo en el que se encuentra la cerda se cuenta con la citología vaginal exfoliativa y la biopsia vaginal.

4.1 CITOLOGÍA VAGINAL EXFOLIATIVA

La citología estudia las células sin importar los patrones arquitectónicos de los tejidos originarios de las células que se examinan. Los aparatos anatómicos frecuentemente evaluados por la citología son: el nervioso, el hemolinfático, el aparato tegumentario, el digestivo, el urogenital y el respiratorio (15). Las técnicas citológicas son apoyos útiles para la evaluación de los aparatos reproductores de hembras y machos. Su utilidad no solo se limita al diagnóstico de enfermedades, ya que tiene valor significativo en la determinación del potencial reproductor del macho (evaluación del semen) y el estadio del ciclo estral en perros y gatos (15).

La mucosa vaginal participa en las variaciones cíclicas del tracto genital. Se expresan fenómenos de reconstrucción morfológica a nivel de epitelio, y con base en las características morfológicas celulares es posible identificar fácilmente cambios/estadíos en un frotis vaginal (29).

La citología vaginal se utiliza en la mayoría de las especies como un método diagnóstico de enfermedades vaginales, uterinas o bien para determinar etapas del ciclo estral o gestación (citología hormonal) (11).

Newberry (1952) y Shutte (1965) reportaron que la citología vaginal puede ser utilizada para determinar el momento óptimo para fecundar a la perra, así mismo Witiak (1967), postuló que aunque no hay ninguna prueba que pueda reemplazar completamente al macho como instrumento para la detección del estro en la perra, y por consiguiente el tiempo preciso para el cruzamiento, la aplicación de frotis vaginales pueden ayudar a determinar con un alto grado de aproximación al momento de la presentación del estro (31). En el caso de cerdas este método no ha sido probado.

El examen citológico para determinar el estado reproductivo en ciertos animales se basa en el estado de maduración que las células del epitelio vaginal presentan a través del proceso exfoliativo (9). También tiene efecto la influencia de hormonas ováricas sobre el epitelio vaginal ya que ocasiona cambios citológicos característicos que permiten, en la mayoría de los casos, determinar la etapa del ciclo estral en la que se encuentra la hembra (11).

Las células que forman el epitelio vaginal estratificado plano sin queratina de la membrana basal hacia la superficie son las siguientes:

4.1.1 Células basales o germinales

Son las mas pequeñas que se observan en el epitelio vaginal. Son de forma esférica u oval, de tamaño uniforme, miden de 5 a 12 micras de diámetro, su núcleo es relativamente grande ocupando casi todo el citoplasma, es redondo, central, hipercromático con cromatina vesicular basófilo en grumos y eventualmente se observan nucleolos (4, 5, 6, 7).

4.1.2. Células intermedias

Tienen forma ovalada o poligonal. Su tamaño depende del grado de maduración y miden de 20 a 40 micras de diámetro, son redondas ó poligonales, tienen contornos bien definidos, su citoplasma es grande y su núcleo vesiculoso, redondo u oval con una definida envoltura nuclear (4, 5, 6, 7).

4.1.3. Células superficiales

Son grandes, planas, de forma poligonal, miden de 40 a 80 micras de diámetro, poseen un citoplasma transparente y un núcleo picnótico pequeño, con la técnica de Papanicolau el citoplasma se colorea en rosa. El núcleo presenta cromatina condensada y un diámetro no mayor de 6 micras. Este tipo de células representa la última fase de maduración del epitelio escamoso (4, 5, 6, 7).

4.1.4. Escamas

Son células enucleadas, estas se observan en gran cantidad durante el estro debido a la maduración del epitelio vaginal (4, 5, 6, 7).

De acuerdo a la etapa del ciclo estral en que se encuentren las hembras la agrupación, el número, la forma y la coloración de las células varían, por lo que es posible determinar la etapa en la que se encuentren.

4.2 TÉCNICA

La mayor ventaja en el examen citológico es que se necesita de un mínimo equipo para su realización.

4.2.1. Toma de Muestra

Identificación de laminilla

Raspar con la espátula de Ayre la mucosa vaginal formando un ángulo de 360°, en sentido de las manecillas del reloj.

El material se coloca sobre un portaobjetos y se disemina formando una película delgada para producir una monocapa celular (11,15).

4.2.2. Fijación

Uno de los pasos mas importantes en la toma de muestras para el estudio citológico, es la fijación inmediata del material, ya que de esto depende la buena conservación de las células, lo que evitará una mala interpretación de las mismas y permitirá un diagnostico acertado (11), el objetivo de ésta es conservar las

características citomorfológicas esenciales. Una vez tomada la muestra sin que estas se hayan secado, se procede a fijarlas inmediatamente con el fin de: inactivar las enzimas autolíticas, evitar la oxidación, alteraciones morfológicas y cambios a la tinción celular (32).

Los frotis que se tiñen con Papanicolaou, deberán fijarse en etanol al 95% cuando aun están húmedos (11 y 12).

4.2.3. Tinción de Papanicolau Modificada

1. Lavar con agua (10 segundos)
2. Hematoxilina (4 minutos)
3. Lavar con agua (10 segundos)
4. Alcohol ácido (Pase rápido, 1 segundo)
5. Lavar con agua (10 segundos)
- 6-8 Etanol 96% (10 segundos, 3 cambios)
9. OG6 (1.31 minutos)
- 10-12 Etanol 96% (10 segundos, 3 cambios)
13. EA – 50 (5 minutos)
- 14-16 15 Etanol 96%(10 segundos, 3 cambios)
- 17 Etanol absoluto (10 segundos)
- 18-20 Xilol (10 segundos, 3 cambios)
20. Montar con resina

21. Observación en el microscopio

4.2.4. Observación al microscopio

Esta se realiza con la ayuda de un microscopio fotónico con los objetivos 10X y 40X.

4.3 BIOPSIA VAGINAL

4.3.1 Toma de muestra

Se utilizó un sacabocados que se introdujo por la vulva y se adosó a la pared vaginal, posteriormente se realizó un giro de 360°, para tomar la muestra.

4.3.2. Fijación de Tejidos

El proceso de fijación no solo preserva los tejidos deteniendo la autólisis sino que también permite que los tejidos permanezcan sin cambios luego de subsecuentes tratamientos. La formalina neutra al 10% estabilizada, esta considerada como el mejor fijador para especímenes patológicos porque preserva estructuras, requiere de un periodo de fijación corto, puede ser usada para la conservación de muestras a largo plazo y penetra rápidamente en el tejido (32).

4.3.3. Procesamiento de Tejidos

Deshidratación, Aclaración e Infiltración

Estos son pasos esenciales designados para remover toda el agua que se pueda extraer de los tejidos y reemplazarla por un medio que se solidifique para así permitir el corte de tejidos (32).

Tiempo total de procesamiento (3-4 hrs.)

1. Enjuague muy breve en agua corriente.
2. Si es necesario, colocar en alcohol al 80%
3. Alcohol al 95%, 3 cambios de 15 a 20 minutos.
4. Alcohol absoluto, 3 cambios, 15 minutos cada uno.
5. Partes iguales de alcohol absoluto y xileno, 15 minutos.
6. Xileno, 2 cambios, 15 minutos c/u.
7. Parafina, 3 cambios, 15 minutos c/u.
8. Parafina, al vacio de 15 a 20 minutos
9. Incluya

4.3.4. Inclusión en parafina

Inclusión, es el proceso de rodear un tejido con una sustancia firme como la parafina, para poder obtener secciones delgadas; está es una mezcla de hidrocarburos sólidos derivados del petróleo. La parafina es blanca o incolora e inodora. Las parafinas blandas tienen un punto de fusión alrededor de los 45°C. Las parafinas duras se derriten cerca de los 60°C y son los mejores para tejidos duros. Sin embargo para uso en laboratorio se recomienda una parafina que se a 56 °C (32).

4.3.4.1 Material para inclusión

1. Moldes de inclusión
2. Moldes plásticos
3. Moldes de descarte
4. Unidades de Inclusión múltiple
5. Centros de inclusión

4.3.5 Proceso

Usando pinzas calentadas en un calentador comercial o un mechero de Bunsen para prevenir que la parafina se adhiera a las pinzas, remueva una cajilla procesadora que contiene el tejido impregnado del área de espera en parafina. Abra la cajilla para examinar la muestra de tejido. Seleccione el molde adecuado de acuerdo con el tamaño de la cajilla y colóquelo en el fondo del molde. Transfiera el molde del plato caliente al plato frío. La parafina rápidamente va a formar una capa, delgada pero sólida, en el fondo del molde. Suavemente oprima las superficies del tejido que se va a cortar contra la capa sólida que lo va a mantener en la posición deseada. El tejido y la cera solidificada permanecen unidos a la cajilla de inclusión, formando un bloque de parafina que en ese momento está listo para seccionarse (32).

4.3.6. Tinción hematoxilina y eosina

1. Lavar las secciones con agua corriente.
2. Teñir con Hematoxilina durante (5 – 20 minutos).
3. Lavar en agua corriente (2 minutos).
4. Diferenciar 0.5 alcohol ácido por algunos segundos
5. Si los núcleos están suficientemente teñidos, azular en sustituto de agua corriente de Scout durante 5 minutos o como alternativa, en 2% de acetato de potasio durante 5 minutos.
6. Lavar las secciones en agua corriente.
7. Teñir en 1% de eosina alcohólica (3-5 minutos).
8. Retirar el exceso de eosina enjuagando las secciones en alcohol absoluto.
9. Aclarar en xileno.
10. Montar en medio de resina sintética.

4.3.7 Medios de Montaje

El paso final en la preparación del portaobjetos, es el de cubrir la porción que contiene el tejido con un vidrio muy delgado, la laminilla cubreobjetos.

Esto hace que la lámina sea permanente y permite el examen microscópico. Para cubrir la laminilla existen tres medios que se pueden usar: resinas naturales, resinas sintéticas o medios acuosos (32).

4.3.8 Observación al microscopio

Esta se realiza con la ayuda de un microscopio fotónico con los objetivos 10X y 40X.

IV OBJETIVO GENERAL

Establecer la comparación entre la citología vaginal exfoliativa y la biopsia vaginal en la determinación de las etapas del ciclo estral, así como establecer si existe mayor detección de cerdas en estro dependiendo de la edad y del método de diagnóstico utilizado (citología vaginal exfoliativa y biopsia vaginal).

V. OBJETIVO ESPECÍFICO

Determinar el porcentaje de cerdas púberes de diferentes edades que son reproductivamente aptas para formar parte del grupo de hembras de reemplazo.

VI. HIPOTESIS

El método de citología vaginal es mejor en la detección del estro en comparación con la biopsia vaginal.

VII. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1 LOCALIZACIÓN GEOGRÁFICA

El estudio se realizó en una explotación intensiva con 2500 cerdas, localizada en el municipio de Perote ubicado en el Estado de Veracruz (34).

Perote, esta localizado en las siguientes coordenadas geográficas: 19° 34', latitud norte, 97°15 latitud oeste, con una altura promedio de 2465 msnm (34).

El clima es frío-seco-regular con una temperatura promedio de 12°C; su precipitación pluvial media anual es de 493.6 mm.

7.2 ANIMALES EXPERIMENTALES

Se utilizaron 230 cerdas divididas en dos fases:

Fase 1, se contó con 50 cerdas prepúberes híbridas entre 90 y 120 Kg. de peso, clínicamente sanas a las cuales se les determinó la etapa del ciclo estral en la que se encontraban por los métodos de citología vaginal exfoliativa y biopsia vaginal.

Fase 2, se contó con 180 cerdas híbridas de diferentes edades (180, 190, 203, 210, 217 y 224 días de edad), en grupos de 30 cerdas cada uno y clínicamente sanas. Se mantuvieron en confinamiento total durante todo el proyecto, bajo condiciones de ambiente controladas y se les determinó la etapa del ciclo estral en la que se encontraban por el método de citología vaginal exfoliativa.

7.3 PROCEDIMIENTO

7.3.1 Fase 1

Se realizó el muestreo con las técnicas de citología vaginal exfoliativa y biopsia vaginal a las cerdas que se sometieron al manejo de rutina de la granja, con la finalidad de realizar una comparación entre ambas técnicas.

Dichas muestras fueron identificadas y para el caso de la citología vaginal exfoliativa, los frotis fueron fijados en alcohol al 96% para posteriormente ser procesados bajo la tinción de Papanicolau modificado logrando con ello la caracterización de las células presentes en cada muestra y definir la fase del ciclo estral en la que se encontraba cada una de las hembras muestreadas.

Para el caso de las biopsias vaginales, éstas fueron depositadas y fijadas en formol al 10% y posteriormente fueron envueltas en papel filtro para ser encapsuladas y enviadas al laboratorio para su posterior inclusión en parafina y ser teñidas con la tinción de hematoxilina y eosina; finalmente las laminillas fueron observadas al microscopio fotónico con los objetivos 10X y 40X.

7.3.2. Fase 2

Se colectaron muestras de las hembras con la ayuda de una espátula de Ayre, para ser procesadas con el método de citología vaginal exfoliativa, dichas muestras fueron identificadas y fijadas en alcohol al 96% para posteriormente ser

teñidas con la tinción de Papanicolau modificado con la finalidad de lograr la caracterización de las células presentes en cada muestra y definir la fase del ciclo estral en la que se encuentra cada hembra muestreada.

Finalmente las laminillas obtenidas en ambas fases fueron observadas con un microscopio profesional marca UKA, con los objetivos 10X y 40X.

VIII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El número de muestras obtenidas de las cerdas en las diferentes etapas del ciclo estral fueron analizadas por estadística descriptiva por medio de tablas de frecuencia y mediante la utilización del método de Ji cuadrada, no encontrando diferencia significativa ($p > 0.05$) (33).

IX. RESULTADOS

9.1 Fase 1

En la gráfica 1, se observa el número de cerdas en las diferentes fases del ciclo estral, identificadas mediante citología vaginal exfoliativa, donde se observa que de 50 cerdas, 10 estaban en diestro (imagen 1 y 2), 13 en proestro (imagen 3 y 4), 18 en metaestro (imagen 5 y 6) y 9 cerdas en estro (imagen 7,8,9 y 10), es decir 22 cerdas en la fase folicular, próximas a iniciar su pubertad, mientras que 28 se encontraban en la etapa prepuberal.

En la gráfica 2, se observan los siguientes resultados a partir del método de biopsia vaginal; 9 cerdas en diestro (imagen 11), 22 cerdas en metaestro (imagen 12), 10 cerdas en proestro (imagen 13) y 9 en estro (imagen 14), es decir 19 hembras en la fase folicular, próximas a iniciar su pubertad, mientras que 31 se encontraban en la etapa prepuberal.

En la gráfica 3, se observa la comparación de ambas técnicas donde se observa que ambas son eficaces para determinar las diferentes etapas del ciclo estral.

9.2 Fase 2

En la gráfica 4, se muestra el número de cerdas de diferentes edades que se detectaron en la etapa de diestro (imagen 1 y 2), obteniéndose 13 cerdas a los

180 días, 8 cerdas a los 190 días, 2 cerdas a los 203 días, 4 cerdas a los 210 días, 5 cerdas a los 217 días y 6 cerdas a los 224 días de edad.

En la gráfica 5, se muestra el número de cerdas de diferentes edades que se detectaron en la etapa de proestro (imagen 3 y 4), obteniéndose 10 cerdas a los 180 días, 9 cerdas a los 190 días, 13 cerdas a los 203 días, 9 cerdas a los 210 días, 12 cerdas a los 217 días y 3 cerdas a los 224 días de edad.

En la gráfica 6, se muestra el número de cerdas de diferentes edades que se detectaron en la etapa de estro (imagen 7,8,9 y 10), obteniéndose, 4 cerdas a los 180 días, 4 cerdas a los 190 días, 4 cerdas a los 203 días, 11 cerdas a los 210 días, 6 cerdas a los 217 días y 8 cerdas a los 224 días.

En la gráfica 7, se muestra el número de cerdas de diferentes edades que se detectaron en la etapa de metaestro (imagen 5 y 6), obteniéndose, 3 cerdas a los 180 días, 9 cerdas a los 190 días, 11 cerdas a los 203 días, 6 cerdas a los 210 días, 7 cerdas a los 217 días y 13 cerdas a los 224 días.

El 46.11% del total de las cerdas se encontraban en fase folicular.

Se identificó el 20.5% de cerdas en estro, a una edad de 210 a 224 días.

Se identificaron 93 hembras en la fase folicular lo que equivale al 51.66 % y 87 hembras en la fase luteal equivalente al 48.3%.

X. DISCUSIÓN

Puede haber circunstancias en que sea necesario recurrir a métodos poco habituales para detectar el estro en las hembras, esto debido a que se ha reportado que hasta un 25% de las cerdas de reemplazo que entran a la granja presentan anestros y son mantenidas por determinado tiempo, o bien son desechadas.

La literatura menciona que el frotis vaginal es un indicador pobre de la etapa del ciclo estral en la cerda (12). Sin embargo, de acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo, se logró determinar la diferenciación de las diversas etapas del ciclo estral, con mayor facilidad en la fase lútea que en la fase folicular, observándose que la detección del estro fue eficiente mediante ambos métodos.

Rodgers *et al.* (1993) realizaron un estudio en cerdos miniatura en Yucatán, mediante citologías vaginales teñidas por métodos hematológicos. Las células epiteliales se clasificaron en: superficiales, intermedias y parabasales, éstas alcanzaron mayor frecuencia de aparición durante el estro, disminuyendo notablemente durante el diestro y aumentando de nuevo durante el proestro. Los recuentos combinados de células superficiales más intermedias fueron

significativamente mayores durante el estro que en el resto de las fases del ciclo. Los autores concluyeron que se podía emplear el examen diario de frotis vaginales para la detección de estro (18), lo cual es similar a lo observado en el presente estudio donde se apreció de igual forma la variación en la presentación de los diferentes tipos de células en las diferentes etapas del ciclo estral y se logró determinar que el 20.5% de las cerdas muestreadas se encontraban en estro en el momento del estudio y el 35.5% de éstas se encontraban en la fase folicular.

Olvera J. (1994), observó mediante un estudio realizado en 6 cerdas de tres meses y medio de edad, un patrón celular similar a lo largo de un periodo de 21 días, por lo que concluyó, que no era posible determinar el momento exacto en que se presentaba la pubertad en la cerda por el método de citología vaginal exfoliativa, lo cual no concuerda con los resultados obtenidos en este estudio, ya que como se menciona anteriormente se distinguieron diferentes patrones celulares, logrando identificar el 35.5% de las cerdas en fase folicular (proestro y estro).

Ríos *et al.* (1999), realizaron un estudio con 11 monos hembras, detectando cambios en periodos definidos en la proporción de células epiteliales, encontrando en la fase folicular se una elevación acelerada de células superficiales, cuya presencia pasa de un 30% cuatro días posteriores a la manifestación de niveles

básales de progesterona, hasta llegar a 70% al final de la fase folicular. También se apreció la presencia de células básicas e intermedias dispersas en formaciones aisladas tipo cúmulo. Se detecta además, que el frotis obtenido se mantuvo siempre consistentemente espeso y sucio e incluso grumoso por la presencia de moco abundante. Mientras que en la fase luteínica se identificó la presencia de células intermedias y básicas. En el frotis las células superficiales disminuyeron notablemente a un 18%. Lo anterior concuerda con los resultados obtenidos en este estudio ya que al identificar células basales características de la etapa del diestro, estas mostraban un agrupamiento característico en forma de racimo de uvas y la consistencia del frotis de igual forma era espeso y sucio por la presencia del moco.

Calderón *et al.* (2000), realizaron un estudio en 120 hembras murciélagos de la subespecie *Artibeus jamaicensis yucatanis*, encontrando la diferenciación de la etapa del ciclo estral: proestro, estro, metaestro y diestro, lo cual concuerda con este estudio ya que también se lograron identificar las diferentes etapas del ciclo estral, sin embargo como ya se ha mencionado, esta diferenciación se dificulta en la fase folicular debido a la transición del epitelio vaginal por la influencia hormonal.

Márquez (2002), realizó un estudio en 6 ratas magueyeras (*Neotoma albigula*), observando la mayor cantidad de células intermedias y células cornificadas ocurrió cuando el número de leucocitos y de células básicas disminuyó de manera

considerable. En la mayoría de los mamíferos durante el estro solo se encuentran células cornificadas, superficiales ó ambas, sin embargo, en el caso de estas ratas no se mostró esta tendencia, ya que durante el estro se observaron también células basales, intermedias y leucocitos. En el presente trabajo la presencia de leucocitos en los frotis vaginales se observaron en la fase folicular y en el caso del estro se identificaron células superficiales y escamas en mayor cantidad.

Diversos autores mencionan que la citología vaginal exfoliativa, es un método eficaz en la determinación del estro en perras. En la segunda fase de este trabajo identificamos 37 cerdas en estro, lo que equivale al 20.5 %, identificándose el mayor número de éstas, en la edad de 210 a 224 días, de igual forma se identificaron 33 cerdas dentro de las edades de 180-190 días de edad en la fase lútea, y 55 cerdas de 203 - 217 días de edad en la fase folicular; en las cerdas dentro de los 224 días de edad se identificaron cerdas que entraban nuevamente a la fase lútea, debido, a que estaban cumpliendo su tercer ciclo estral.

Comparando ambas técnicas se puede concluir que ambas son eficaces en la diferenciación de las etapas del ciclo estral, sin embargo existen otros factores que se deben tomar en cuenta, como se mencionó anteriormente; la biopsia vaginal es un método invasivo (traumático), que requiere por lo menos de 48 hrs. para emitir un diagnóstico, por lo que otro método con mayor ventaja, es la citología vaginal exfoliativa.

XI. CONCLUSIONES

1. Ambos métodos son eficaces en la determinación de la diferenciación de las etapas del ciclo estral.
2. Se recomienda la citología vaginal exfoliativa ya que es una herramienta útil para obtener información sobre el estado reproductivo de la cerda, sin dañar ó causar molestia en el animal ya que no es un método traumático y su diagnóstico puede ser dentro de las primeras 24 horas.
3. Con ambos métodos se logro la detección de las mismas cerdas en estro durante la primera fase.
4. En la segunda fase, se logró identificar el mayor número de cerdas en estro a la edad de 210 días.
5. El porcentaje de cerdas prepúberes identificadas como aptas para integrarse a la piara en este trabajo fue de 78.8 %, equivalente a 142 cerdas.

XII. CUADROS, GRAFICOS E IMÁGENES

Cuadro 1. Algunas dimensiones y características del ovario

Forma	Forma de baya (racimo de uvas)
Folículos maduros	
Cantidad	Hasta 25
Diámetro (mm)	10-15 mm
Cuerpo lúteo maduro	
Forma	Esferoide u ovoide
Diámetro	10-15 mm
Duración Ciclo estral	18-24 días
Gestación	112-114 días

Fuente : Dyce,1999 y Banks ,1996.

Cuadro 2. Características de los folículos ováricos.

Estructura	Características
Folículos Primordiales (Unilaminares, preantrales y en reposo)	Se componen de un ovocito primario rodeado por un epitelio escamoso simple de células foliculares, de aproximadamente 40 micras de diámetro. Están rodeados de una lámina basal (29,31 y 35).
Folículos Primarios (Unilaminares, preantrales y en crecimiento)	Se compone de un ovocito primario rodeado por un epitelio de células foliculares que pueden ser cuboidal simple a simple cilíndrico (29,31 y 35).
Folículos Secundarios (Multilaminares, preantrales y en crecimiento)	Se componen de un ovocito primario rodeado por un epitelio estratificado de células foliculares poliédricas denominado células de la granulosa. La estratificación de las células de la granulosa se origina en las células foliculares proliferantes del folículo primario. Se caracterizan por el desarrollo de la zona pelúcida, una capa glicoproteica de 3 – 5 mm de grosor, que se sitúa alrededor de la membrana plasmática del ovocito. La zona pelúcida se forma mediante secreciones de las células de la granulosa que rodean al ovocito y, en parte, por el propio ovocito (29,31 y 35).
Folículos Terciarios (Multilaminares, antrales y en crecimiento)	También llamados folículos vesiculares o de Graaf, se componen de un ovocito primario (o, en la mayoría de las especies, de un ovocito secundario inmediatamente antes de la ovulación) rodeado de un epitelio estratificado denominado cúmulo vígero. El antro

	<p>folicular que caracteriza a los folículos terciarios, se forma cuando las fisuras llenas de líquido de las células de la granulosa de los folículos secundarios se funden para formar una gran cavidad que contiene el líquido folicular. Al final de este folículo terciario, fase inmediatamente anterior a la ovulación, los folículos son llamados folículos maduros (29,31 y 35).</p>
--	---

Fuente: Arancibia S., Martínez G., Trujillo O, 2001.

Cuadro 3. Características de las estructuras no foliculares del ovario.

Estructura	Característica
Cuerpo hemorrágico	Se forma después de la ovulación al producirse la ruptura de la pared ovárica y por ende de los vasos sanguíneos, por lo que el folículo se llena de sangre, dando origen al cuerpo hemorrágico, a partir del cual se formara el cuerpo lúteo al ser invadido el coagulo por células de la granulosa y la teca.
Cuerpos lúteos en diferente estado de desarrollo o regresión	Las células del cuerpo hemorrágico que corresponden a las células de la granulosa y a las células de la teca interna comienzan una transformación denominada luteinización que consiste en el aumento de volumen (hipertrofia) y del número de células (hiperplasia), las cuales además sufren modificaciones bioquímicas y morfológicas. El proceso de luteinización da por resultado el desarrollo de células con capacidad esteroideogénica, en la que se observa una acumulación de lípidos en el citoplasma, por lo que estas células, ahora reciben el nombre de células lúteas. La estructura que se forma por la invasión del cuerpo hemorrágico con células lúteas se conoce como cuerpo lúteo
Cuerpo blanco (corpus albicans)	Si no se presenta la gestación, el cuerpo lúteo sufre regresión (luteolisis), ocurriendo proliferación del tejido conjuntivo, formándose una cicatriz denominada cuerpo blanco, que será reabsorbida

	paulatinamente
--	----------------

Fuente: Arancibia S., Martínez G., Trujillo O, 2001.

Cuadro 4. Dimensiones del útero de la cerda

Tipo	Bipartido
Longitud	
Cerda no gestante	60 a 100 cm.
Cerda gestante	180 a 220 cm.

Fuente: Dyce, 1999 y Banks, 1996.

Cuadro 5. Características histológicas del epitelio vaginal a lo largo del ciclo estral.

ETAPA	CARACTERISTICAS
<p style="text-align: center;">PROESTRO</p>	<p>10 o menos capas celulares No descamación o cronificación. En el estroma subepitelial es posible encontrar algunos polimorfonucleares.</p>
<p style="text-align: center;">ESTRO</p>	<p>13 – 20 capas Ocasionalmente se observan células cornificadas en las capas superficiales del epitelio. Estrato germinativo con presencia de algunos leucocitos intraepiteliales.</p>
<p style="text-align: center;">METAESTRO</p>	<p>Al inicio se observa cornificación de las capas superficiales, seguido por la descamación del epitelio cornificado. Presenta de 3-6 capas celulares. Pueden observarse células leucocitarias intraepiteliales organizadas.</p>
<p style="text-align: center;">DIESTRO</p>	<p>Presenta de 3-6 capas celulares. No infiltración linfocitaria subepitelial, ni intraepitelial.</p>

Fuente: Arancibia S., Martínez G., Trujillo, 1999.

Cuadro 6. Características de las etapas del ciclo estral.

FASE FOLICULAR	Proestro	<ul style="list-style-type: none"> • 3-4 días • Hiperemia • 50 folículos (2-5 mm) • Maduran 10-20 (8-11mm)
	Estro	<ul style="list-style-type: none"> • 2-3 días (Solo sino existe gestación o lactación) • Reflejo de inmovilidad • Vulva edematosa hiperémica • Eclosión folicular, liberación de ovocitos (38-42 hrs. después de iniciado el estro)
FASE LUTEINICA	Metaestro	<ul style="list-style-type: none"> • 7-8 días • Cuerpo lúteo progesterona (P4) • Si gestación: P4 inhibe fase folicular.
	Diestro	<ul style="list-style-type: none"> • Si no hay fecundación – preparación para el siguiente celo. • Represión del cuerpo lúteo. • Inicio de fase folicular.

Fuente: FEDNA, 2001

Cuadro 7. Hormonas involucradas en la reproducción de la cerda y su función.

Tipo de Hormona	Nombre	Función
Hormonas Ováricas	Estrógenos 17 beta estradiol (E2)	<ul style="list-style-type: none"> • Secretada por los folículos ováricos. • Bajos niveles hasta el día 10, con máximo el día 17. • Secreción paralela al crecimiento folicular. • En una primera fase inhibe LH/FSH para más tarde favorecer el pico preovulatorio de LH y otro posterior de FSH.
	Progesterona (PG4)	<ul style="list-style-type: none"> • Secretada por cuerpo lúteo. • Inhibe GnRH - la fase folicular. • Mantiene altos niveles durante la gestación. • Si no hay fecundación, la caída de PG 4 produce un aumento primero de FSH y posteriormente de estrógenos.
Hormonas Uterinas	Prostaglandinas PGF	<ul style="list-style-type: none"> • Producida antes del final de la fase luteínica, transportada a través de la vena ovárica, actúa sobre el cuerpo lúteo (luteolisis) días 15-16 del ciclo de hembras no gestantes, iniciando la disminución de la secreción de PG4.

		<p>Si hay fecundación, los estrógenos hacen que la PGF2 alfa se libere dentro del útero, por lo que no alcanza el cuerpo lúteo, no hay luteolisis, se mantienen los niveles de PG4 y continúa la gestación.</p>
Hormonas Hipofisiarias	LH	<ul style="list-style-type: none"> • Secreción pulsátil controlado por GnRH. • Pico pre-ovulatorio coincidiendo con la caída de la secreción estrogénica. • Ovulación, diferenciación de las células foliculares y formación del cuerpo lúteo.
	FSH	<ul style="list-style-type: none"> • Dos picos: uno simultáneo al preovulatorio de LH y el segundo 2 o 3 días después del estro. • Maduración folicular
	Prolactina	<ul style="list-style-type: none"> • Pico máximo tras secreción preovulatoria de LH seguida de segundo pico tras el día 2 del ciclo.

Fuente: FEDNA, 2001

Cuadro 8. Número de cerdas detectadas en las diferentes fases del ciclo estral.

(Fase 1)

ETAPA DEL CICLO ESTRAL	Biopsia	Citología
DIESTRO	9	10
PROESTRO	10	13
ESTRO	9	9
METAESTRO	22	18

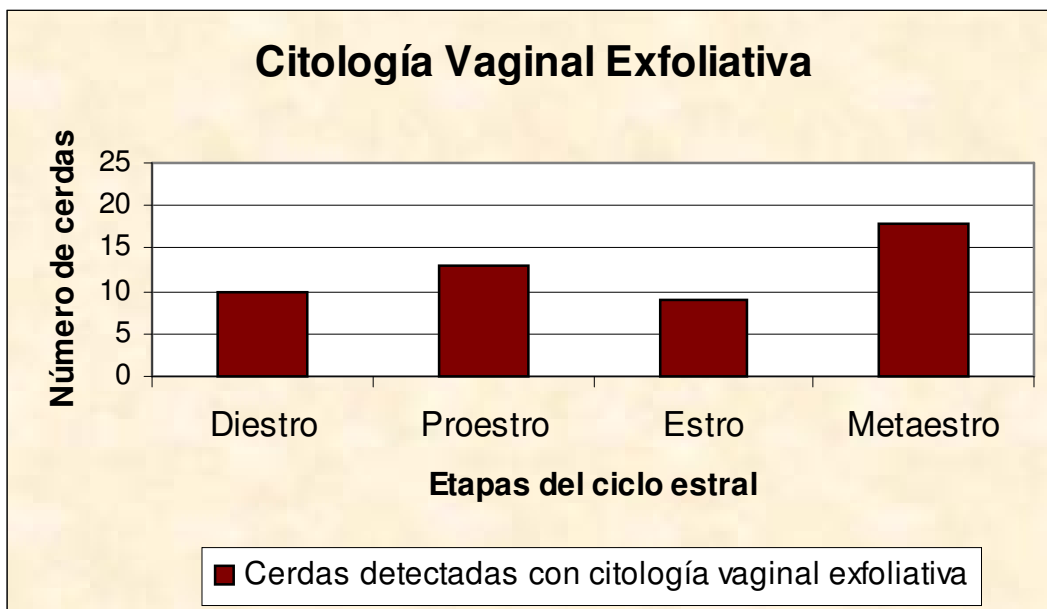
No se encontró significancia estadística $P > 0.05$

Cuadro 9. Número de cerdas de diferentes edades detectadas en las diferentes fases del ciclo estral (Fase 2)

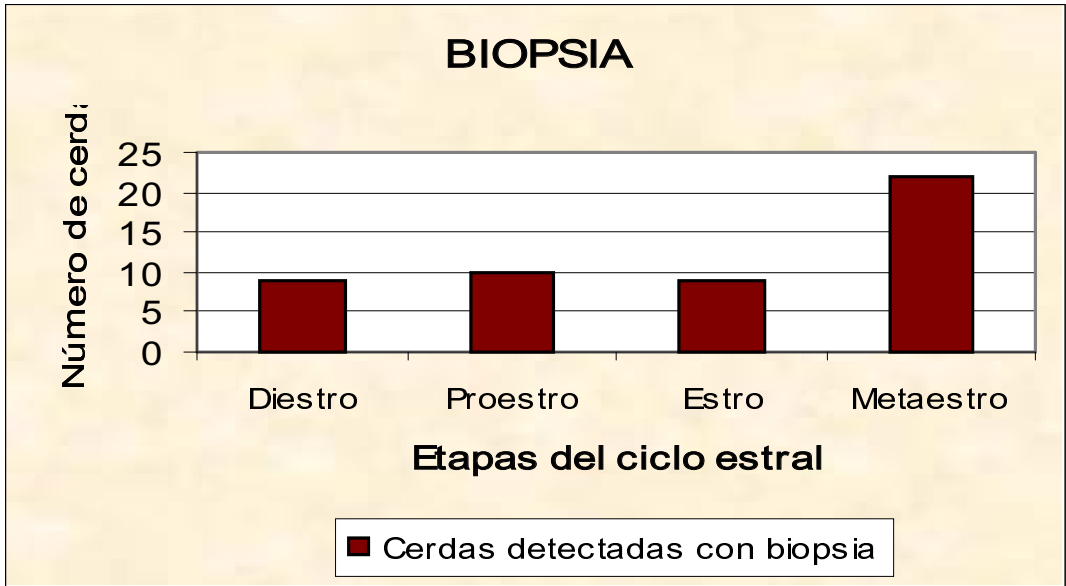
ETAPA DEL CICLO ESTRAL	180 días	190 días	203 días	210 días	217 días	224 días
DIESTRO	13	8	2	4	5	6
PROESTRO	10	9	13	9	12	3
ESTRO	4	4	4	11	6	8
METAESTRO	3	9	11	6	7	13

No se encontró significancia estadística $P > 0.05$

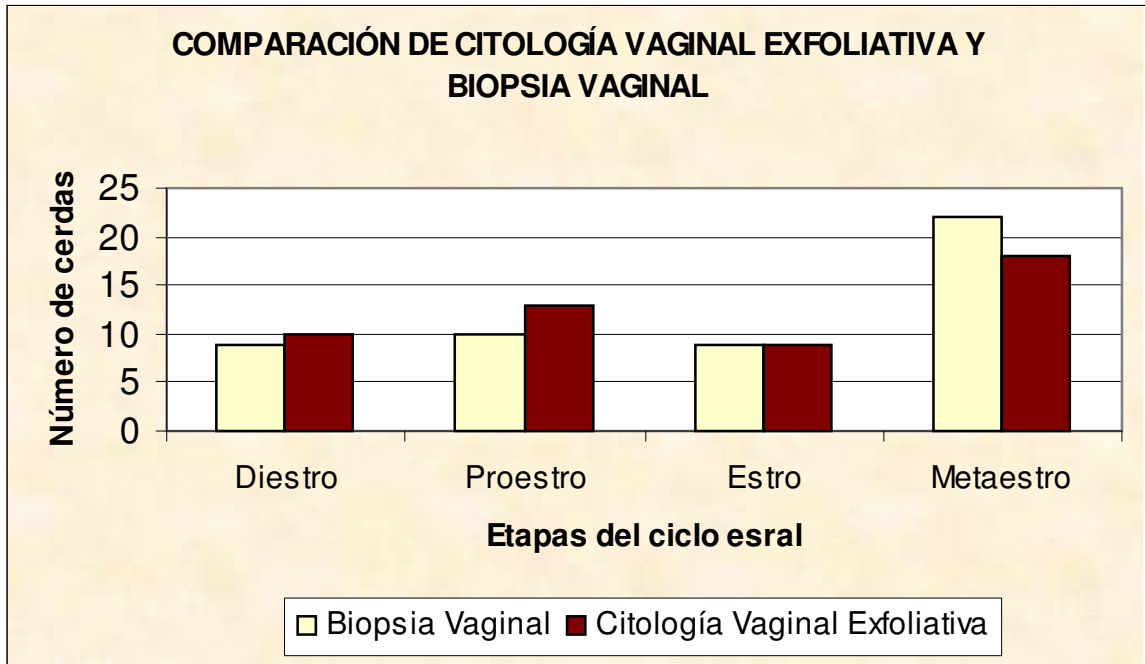
GRÁFICAS DE RESULTADOS DE LA PRIMERA FASE



Gráfica 1. Número de cerdas detectadas con citología vaginal exfoliativa en las diferentes etapas del ciclo estral.

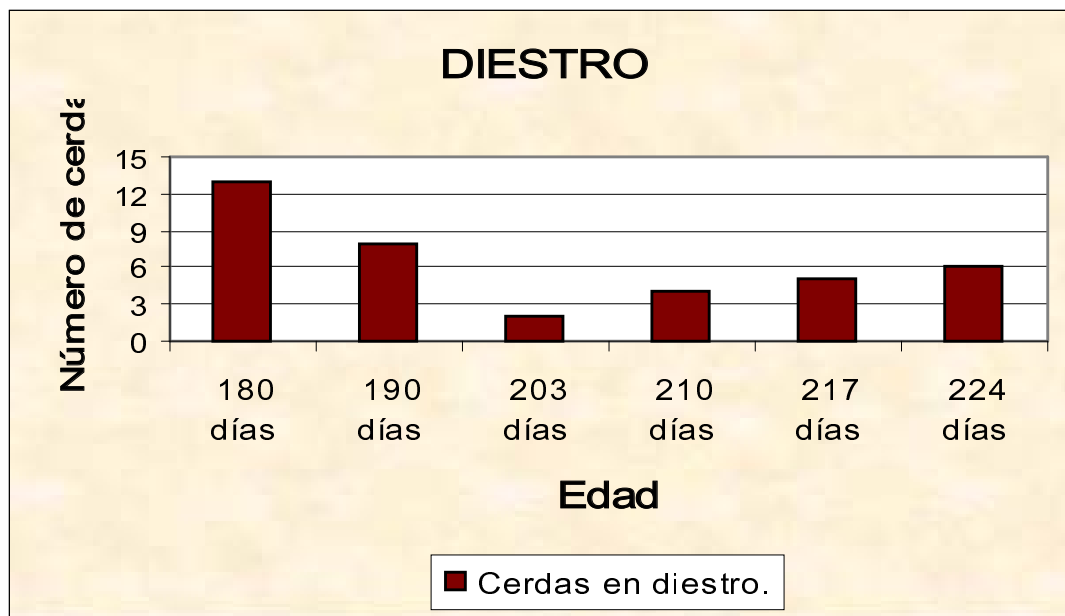


Gráfica 2. Número de cerdas detectadas con biopsia vaginal en las diferentes etapas del ciclo estral.

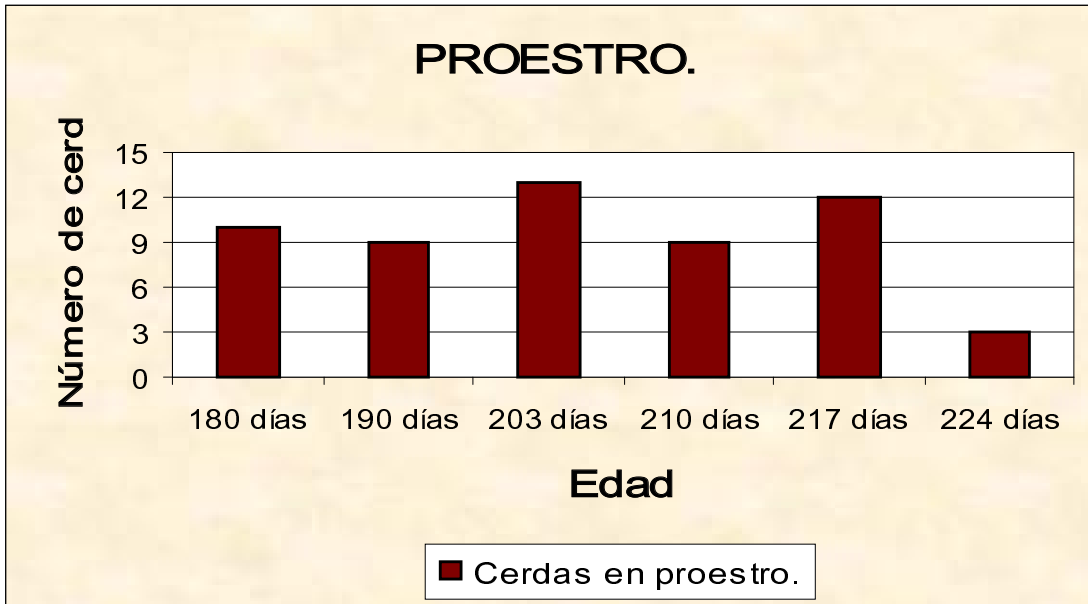


Gráfica 3. Comparación de ambos métodos (citología vaginal exfoliativa y biopsia vaginal) en la diferenciación de las etapas del ciclo estral.

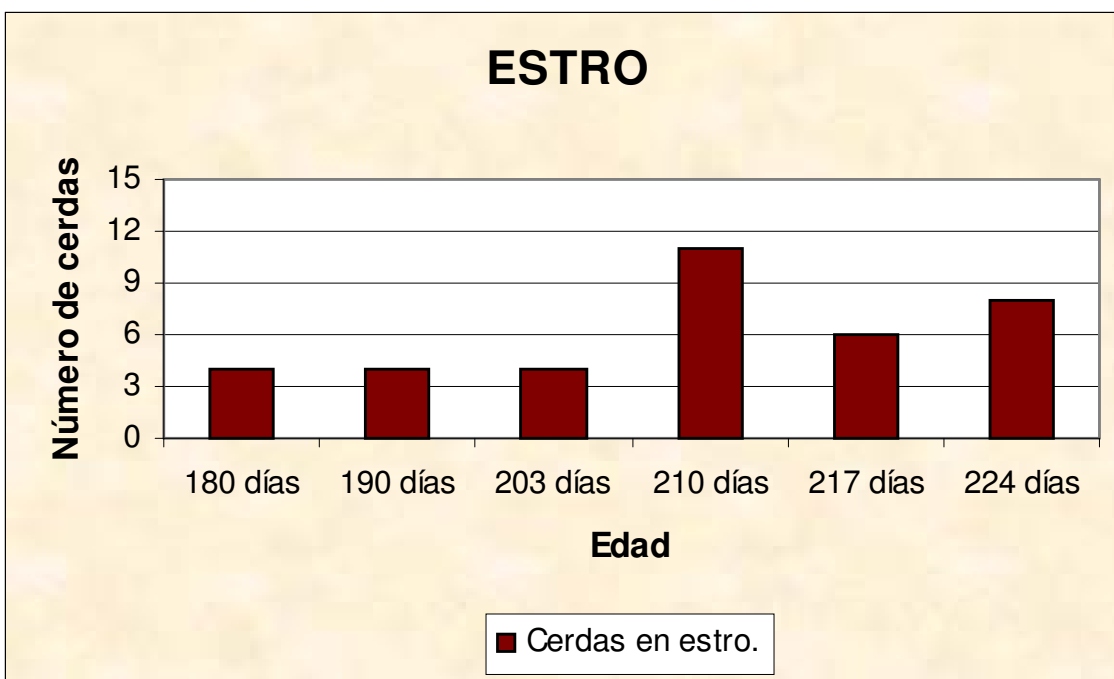
GRÁFICAS DE RESULTADOS DE LA SEGUNDA FASE



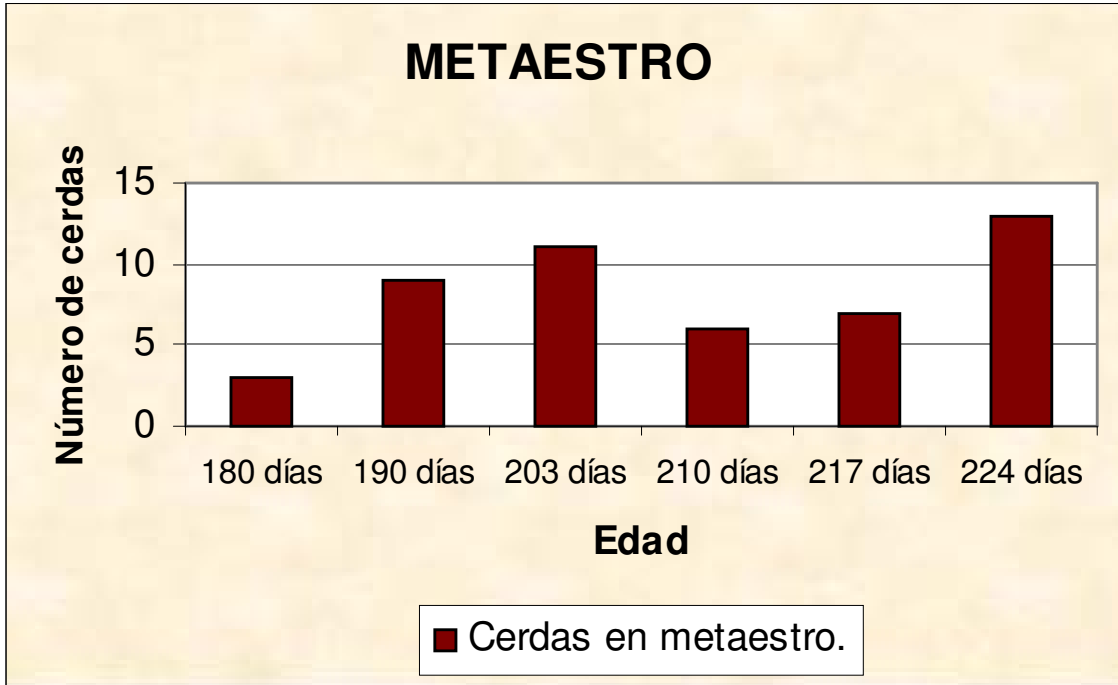
Gráfica 4. Número de cerdas de diferentes edades detectadas en diestro.



Gráfica 5. Número de cerdas de diferentes edades detectadas en proestro.



Gráfica 6. Número de cerdas de diferentes edades detectadas en estro.



Gráfica 7. Número de cerdas de diferentes edades detectadas en metaestro.

IMÁGENES CITOLOGIA VAGINAL

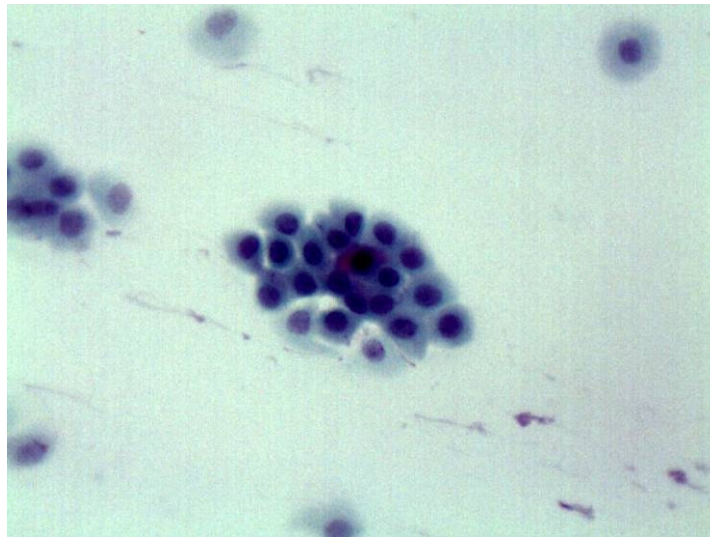


Imagen 1.

Microfotografía de células basales, teñidas con Papanicolau, 400X, características del diestro.

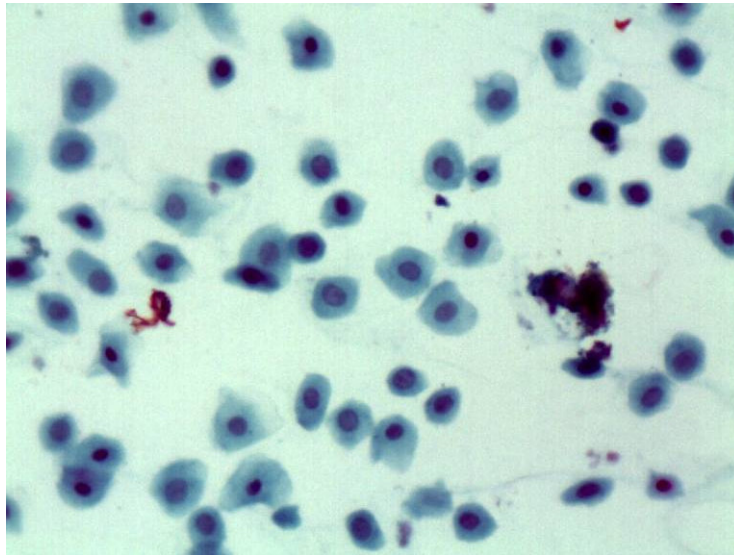


Imagen 2.

Microfotografía de células basales, teñidas con Papanicolau, 400X, características del diestro.

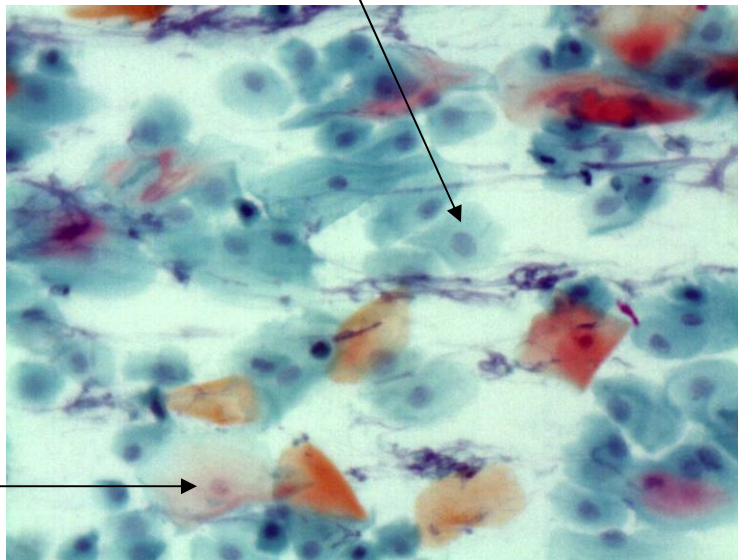


Imagen 3.

Microfotografía de células intermedias (1) y superficiales (2), teñidas con Papanicolau, 400 X, características del proestro.

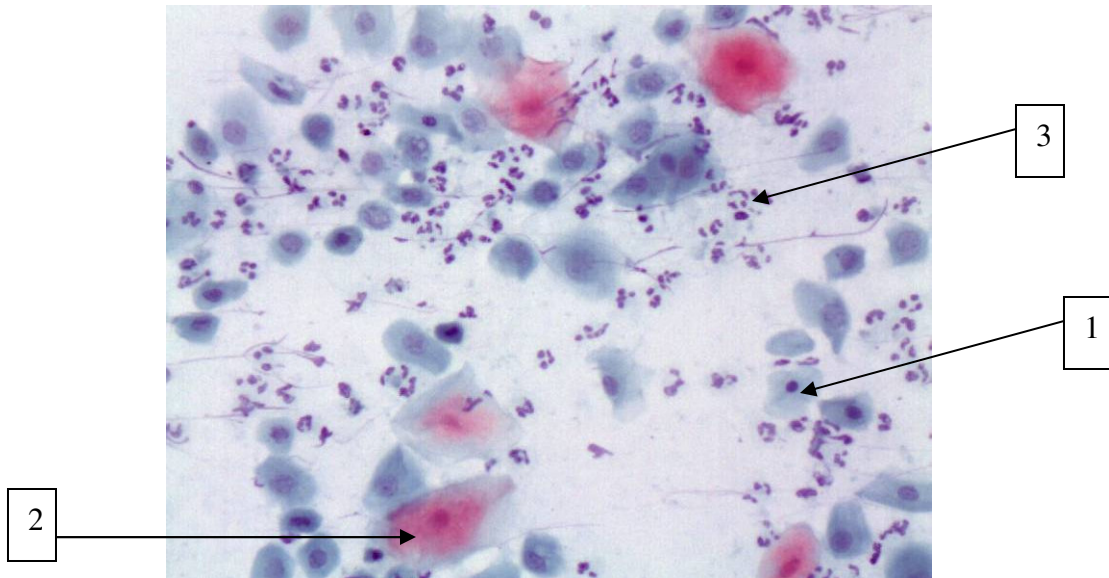


Imagen 4.

Microfotografía de células intermedias (1), superficiales (2) y leucocitos (3), teñidas con Papanicolau, 400X, características del proestro.

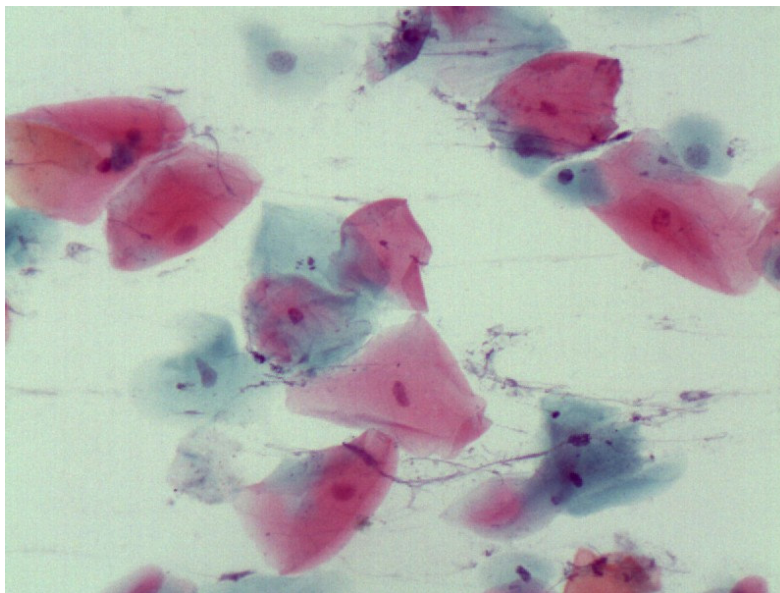


Imagen 5.

Microfotografía de células superficiales, teñidas con Papanicolau, 400X, características de
estro.

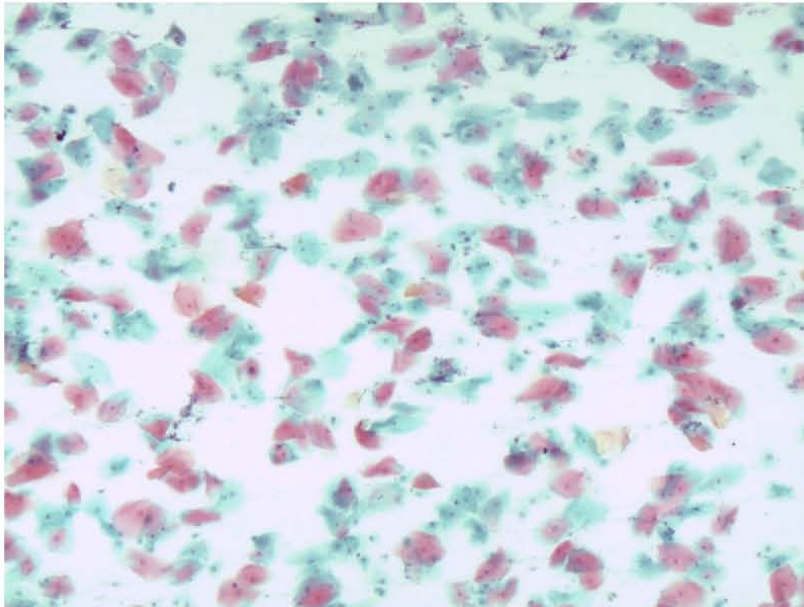


Imagen 6.

Microfotografía de células superficiales teñidas con Papanicolau, 100X, características de
estro.

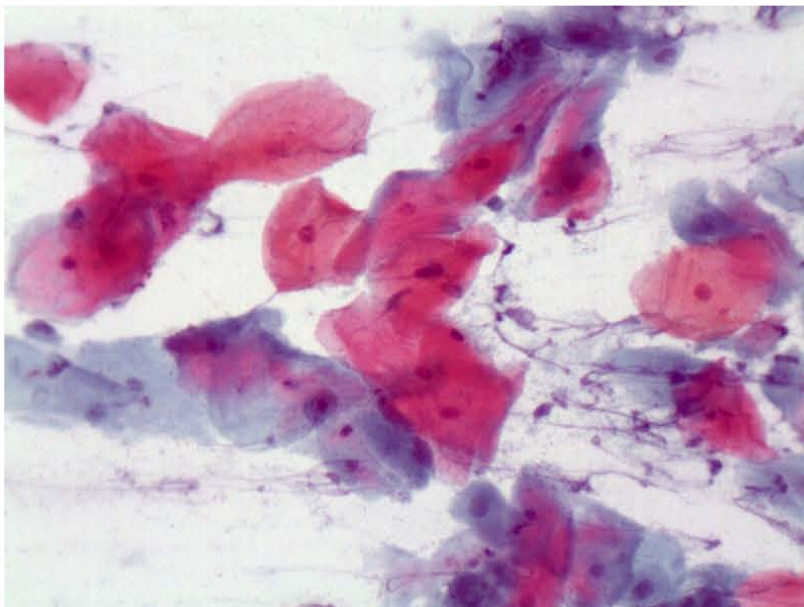


Imagen 7.

Microfotografía de escamas, teñidas con Papanicolau, 400X, características de estro.

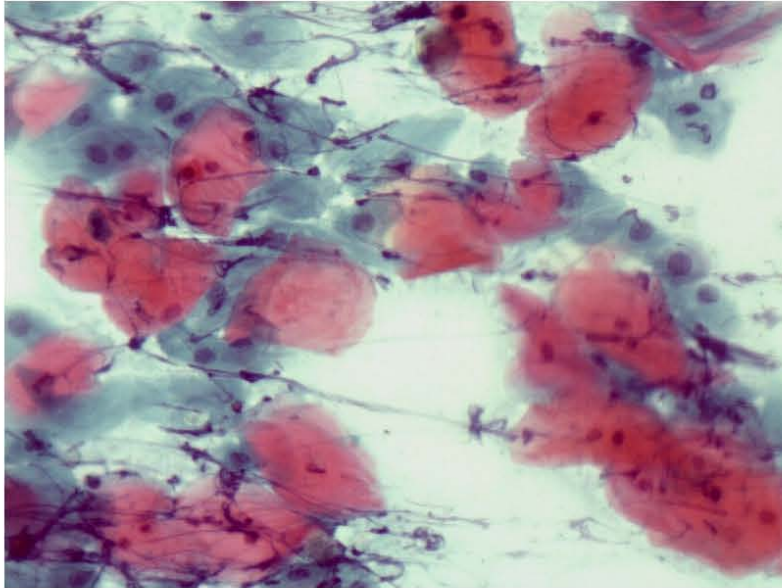


Imagen 8.

Microfotografía de escamas teñidas con Papanicolau, 400X, características de estro.

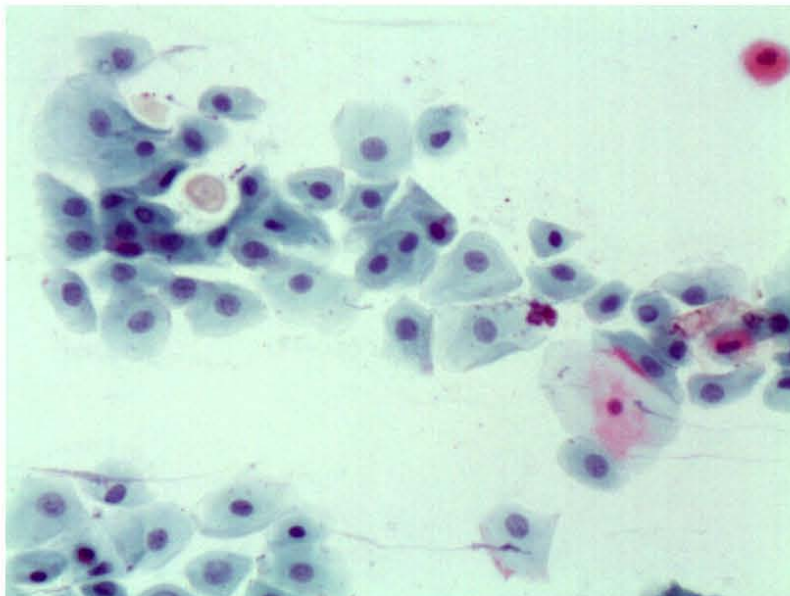


Imagen 9.

Microfotografía de células intermedias, teñidas con Papanicolau, 400X, características del metaestro.

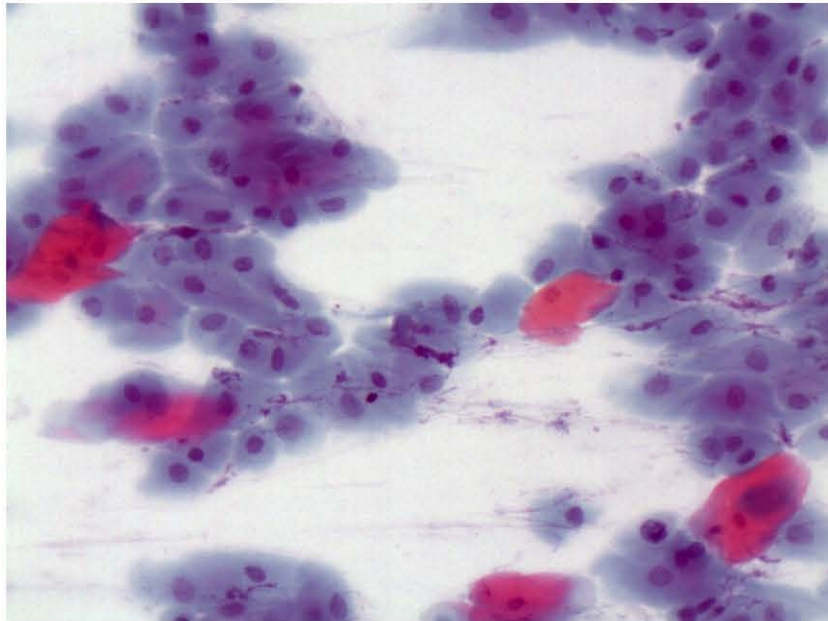


Imagen 10.

Microfotografía de células intermedias, teñidas con Papanicolau, 400X, características del metaestro.

IMAGENES BIOPSIA VAGINAL

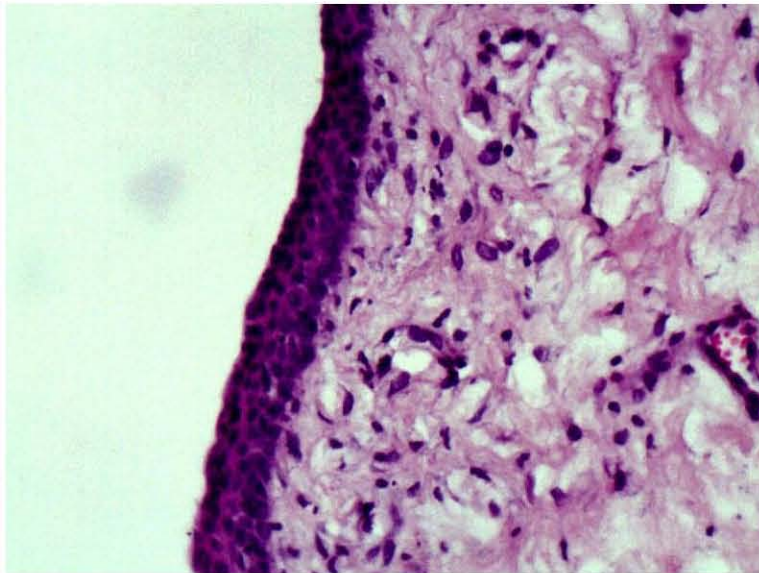


Imagen 11.

Microfotografía de un corte de epitelio vaginal teñido con hematoxilina y eosina de la etapa de diestro, 400X.

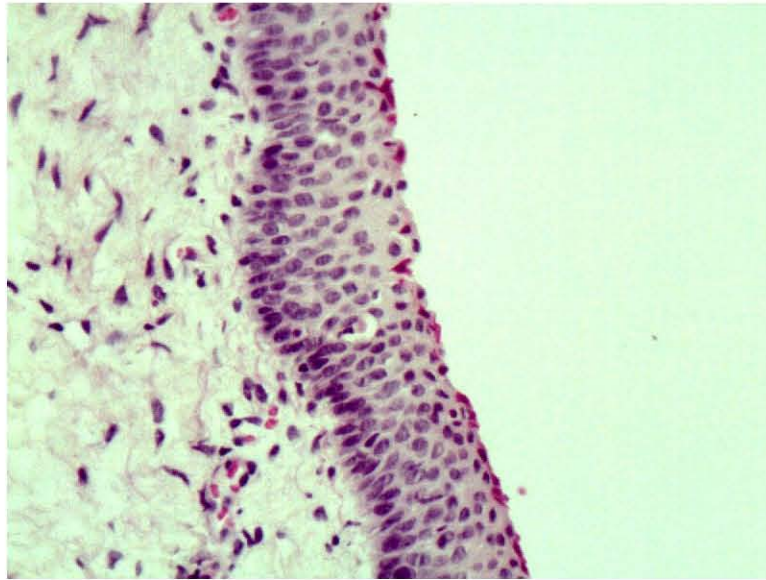


Imagen 12.

Microfotografía de un corte de epitelio vaginal teñido con hematoxilina y eosina de la etapa de mestaestro, 400X.

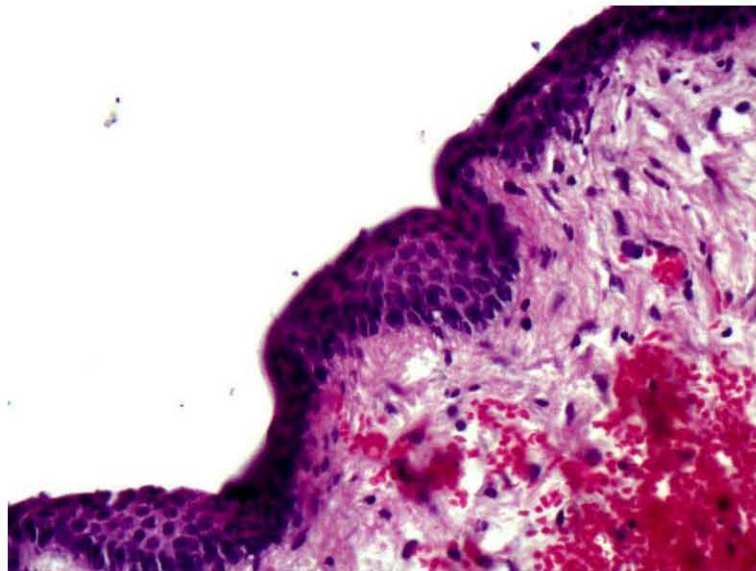


Imagen 13.

Microfotografía de un corte de epitelio vaginal teñido con hematoxilina y eosina de la etapa de proestro, 400X.

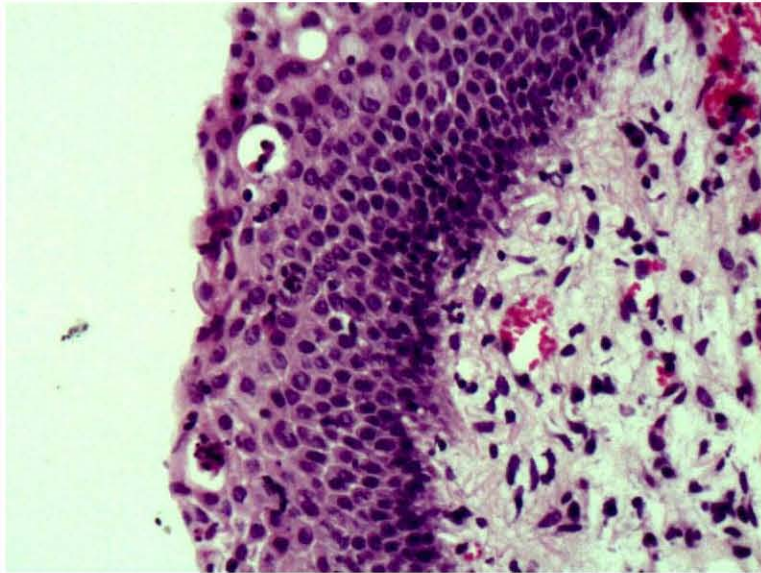


Imagen 14.

Microfotografía de un corte de epitelio vaginal teñido con hematoxilina y eosina de la etapa de estro, 400X.

XIII. LITERATURA CITADA

1. Herrera H. La canal y la carne de cerdo. *Veterinaria México*,3: 21- 25 (1997).
2. Trujillo O., Manejo de la hembra, sanidad, bienestar y su influencia en la productividad. XI Congreso Brasileiro de Vetrinarios Especialistas Em Suinos – 30/09 a 30/10 de 2003.
3. Olvera J., Citología Vaginal Exfoliativa en Cerdas Prepúberes y Púberes. (Tesis de Licenciatura), Mexico (D.F.): UNAM,1984.
4. Roderick C. Tubbs, Problems in swine reproduction: Matching clinical signs with cyclical phases, *Veterinary Medicine/July 1987*.
5. Done, J.T. And Heard, T.W.: Early pregnancy diagnosis in the sows by vaginal biopsy. *Veterinary Research 82:64-68 (1968)*.
6. Morton, D.B. and Rankin, J.E.F.: The histology of the vaginal epithelium of the sow in oestrus cycle and its implication to pregnancy diagnosis. *Irish. Vet. J. 21:234 (1967)* Citado por Villalobos y Doporto (12).
7. Villalobos, A. y Doporto, J.M.: Diagnostico de gestación en la cerda por medio de la biopsia vaginal. *Veterinaria Mexico 5: 34-42 (1974)*.
8. Neaupane T.R., Pandit R.K., Jogi S., Vaginal biopsy, pregnancy detection and induction of farrowing in crossbred sows. *Indian Journal of Animal Reproduction, 24(1):73-74,2003*.

9. Tobon C. Biopsia vaginal en cerdas preñadas y su correlación citológica (Tesis de Licenciatura), Mexico (D.F): UNAM. 1982.
10. http://es.wikipedia.org/wiki/Biopsia#Biopsia_con_sacabocados.
11. "Nuria B.A., Citología Diagnostica Veterinaria, Manual Moderno, JHG Editores. 2001. 1-5 y 19-25.
12. Dellman D.H., Histología Veterinaria, Segunda edición, Editorial Acribia 1994, España, pp: 267-290.
13. Dyce, K.M., Sack, W.O., Wensing, C.J., Anatomía Veterinaria, segunda edición, Mc Graw-Hill Interamericana, pp 891-893.
14. Trujillo M.E., Sincronización del estro en cerdas nulíparas y primíparas (Tesis de Maestría), Mexico (D.F.): UNAM, 1994.
15. Banks, Williams, Histología Veterinaria Aplicada.1996. Ed Manual Moderno.
16. Dieter D., Burell J., Veterinary Histology, Fifth edition, Edit Williams and Wilkins 1998, pp 247-269.
17. Esbenchade K.I. Secretos y ciencia del ciclo estral, Nacional Horg Farmer, Venezuela Porcina, 45 (1):12,2006.
18. Dellman D.H., Citology and Microscopy Anatomy, The Nacional Veterinary Medical Series, Edit Williams and Wilkins, 1996, USA, pp: 265-281.

19. Fuentes M., Pérez L., Suárez Y., Características reproductivas de la cerda. Influencia de algunos factores ambientales y nutricionales. Revista Veterinaria REDVET, Vol. VII, No. 1:1-36,2006.
20. Junqueira L.C., Carneiro J., Histología básica, tercera edición, Salvat 1994, pp: 471-495.
21. <http://www.etsia.upm.es/fedna/capitulos/2001CAPII.pdf>
22. Fawett W.D., Compendio de Histología, Editorial Mc Graw Hill Interamericana, 1999, España, pp: 279-295.
23. Carrión D., Medel P., XVII Curso de Especialización FEDNA, Interacción Nutrición Reproducción e ganado Porcino.
24. www.acontece.com.ar/modulo3.htm.
25. Arancibia S., Martínez G., Trujillo O., Mejoramiento animal reproducción. División Sistema Universidad Abierta. UNAM, 1999, Mexico D.F. pp 1-73.
26. Dyck, G.W.: Normal and abnormal development and puberty in gilts and boars. In: Current Therapy in Theriogenology W.B. Saunders Co. Philadelphia, 1980.
27. Daniel W.W. Bioestadística. Bases para el análisis de las ciencias de la salud. 2004. 180-183, 241-249. Ed Limusa Wiley.
28. Paniagua R., Nistal M., Sesma P, Citología e Histología Vegetal y animal, Segunda edición, Editorial Mc Graw – Hill.

29. Gordon, I., Reproducción controlada del cerdo, 1999, Editorial Acribia.
30. Cunningham J.G., Fisiología Veterinaria, Tercera edición, Editorial Elsevier, 2003.
31. <http://www.google.com.mx/search?hl=es&q=PEROTE%2C+VERACRUZ&btnG=B%20BAsqueda+en+Google&meta=>.
32. Diedrich S., Endocrinología y Fisiología de la Reproducción de los animales zootécnicos, Editorial Acribia, Zaragoza (España) 1972, pp 102-113.
33. Manual de Procedimientos en Citología. Ejercito Nacional. (2000)
34. <http://www.altavista.com/web/results?itag=ody&q=ciclo+estral+en+cerdas&kgs=0&kls=1&stq=10>.
35. Alam V., Fisiología de la ovulación . Estudio clínico de la función ovárica, Unidad de Medicina Reproductiva, Vol. 9., Número 3, Diciembre de 1998.
36. http://agronomia.uchile.cl/extension/circular_extensio_panimal/CIRCULAR%20DE%20EXTENSION/N%20B028/ARTICULOS_PDF/Articulo%206.pdf.
37. Trujillo O., Martínez G., Herradora L., La piara reproductora, Ediciones Mundi-prensa, 2002, México D.F., Madrid, pp 71-75, 113-123.

ANEXOS

Anexo 1. Tabla de recolección de datos de la fase 1, en la que se proporciona la identificación de la hembra y la identificación de la etapa del ciclo estral en la que se encontraba cada cerda muestreada por los métodos de citología vaginal exfoliativa y biopsia vaginal.

GRUPO 1 (180-190 DIAS DE EDAD)		
IDENTIFICACION	BIOPSIA	CITOLOGIA
1	ME	ME
2	ME	ME
3	ME	PR
4	ME	ME
5	ME	ME
6	ME-DI	DI
7	ME	ME
8	ES	ES
9	ME	ME
10	ME	ME
11	ES	ES
12	ME	PR
13	ES	ES
14	ME-DI	ME
15	DI	DI
16	PR	PR
17	ME	ME
18	DI	DI
19	DI	DI
20	DI	DI
21	ME	ME
22	ME	ME
23	PR	PR
24	DI	DI
25	PR	PR
26	ES	ES
27	ME	ME
28	ME	ES
29	PR	PR
30	DI	DI
31	PR	ME
32	ES	ES

33	PR	PR
34	ME	ME
35	ME	ME
36	PR	PR
37	ME	PR
38	DI	DI
39	ES	ES
40	PR	PR
41	DI	DI
42	PR	PR
43	ME	ME
44	ME	ME
45	ES	ES
46	ES	ES
47	PR	PR
48	ES	PR-ES
49	DI	DI
50	ME	ME

DI: Diestro, PR: Proestro, ES: Estro, ME: Metaestro

Anexo 2. Tablas de recolección de datos de la fase 2 en la que se proporciona la identificación de la hembra y la identificación de la etapa del ciclo estral en la que se encontraba cada cerda muestreada por el método de citología vaginal exfoliativa a diferentes edades.

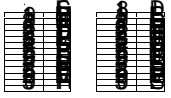
GRUPO 1 (180 DIAS DE EDAD)	
IDENTIFICACION	CITOLOGIA
1	AN
2	ME
3	PR
4	AN
5	ES
6	PR
7	AN
8	ME
9	PR
10	PR
11	AN
12	PR
13	ES
14	AN
15	PR
16	PR
17	AN
18	AN
19	ES
20	PR
21	PR
22	ME
23	PR
24	AN
25	ES
26	AN
27	AN
28	AN
29	AN
30	AN

GRUPO 2 (190 DIAS DE EDAD)	
IDENTIFICACION	CITOLOGIA
1	ME
2	ME
3	PR
4	ME
5	PR
6	AN
7	ME
8	ES
9	ES
10	ME
11	PR
12	PR
13	AN
14	PR
15	PR
16	AN
17	PR
18	PR
19	ME
20	ES
21	ME
22	PR
23	ME
24	AN
25	ES
26	AN
27	AN
28	AN
29	AN
30	ME

DI: Diestro, PR: Proestro, ES: Estro, ME: Metaestro

GRUPO 3 (203 DIAS DE EDAD)	
IDENTIFICACION	CITOLOGIA
1	ME
2	PR
3	PR
4	PR
5	ME
6	ES
7	ME
8	ME
9	DI
10	ES
11	PR
12	PR
13	ME
14	PR
15	PR
16	DI
17	PR
18	PR
19	PR
20	ME
21	ME
22	ME
23	PR
24	ME
25	ES
26	PR
27	ME
28	PR
29	ME
30	ES

GRUPO 4 (210 DIAS DE EDAD)	
IDENTIFICACION	CITOLOGIA
1	ES
2	PR
3	ES
4	PR
5	DI
6	ES
7	ME
8	PR
9	PR
10	ES
11	PR
12	ES
13	ES
14	PR
15	ME
16	PR
17	DI
18	ME
19	ES
20	ME
21	DI
22	ES
23	PR
24	ES
25	ME
26	PR
27	ME
28	ES
29	ES
30	DI



DI: Diestro, PR: Proestro, ES: Estro, ME: Metaestro

GRUPO 5 (217 DIAS DE EDAD)	
IDENTIFICACION	CITOLOGIA
1	PR
2	PR
3	PR
4	DI
5	DI
6	PR
7	PR
8	DI
9	PR
10	ME
11	PR
12	ES
13	PR
14	ES
15	DI
16	ME
17	ES

GRUPO 6 (224 DIAS DE EDAD)	
IDENTIFICACION	CITOLOGIA
1	PR
2	ES
3	ME
4	ES
5	DI
6	ME
7	ME
8	ME
9	PR
10	DI
11	ME
12	ME
13	PR
14	ES
15	DI
16	DI
17	ME

DI: Diestro, PR: Proestro, ES: Estro, ME: Metaestro