

Cambios en la estructura histológica del útero de chinchillas (*Eryomis laniger*) jóvenes y adultas implantadas con zeranol*

Samuel Figueroa Aragón**
René Fernández Román***
Santiago René Anzaldúa Arce***
Mario Pérez-Martínez***, +

Abstract

In order to determine histologic changes in the uterus of Zearalenol subcutaneously implanted chinchillas (*Eryomis laniger*) (12 mg/ animal), 30 animals divided in two groups were used. One group included virgin females (12-15 months old), and the other one, adult females (24-30 months old). Each group was treated with Zearalenol with a corresponding control ones. Animals were sacrificed, and the uterus was immediately separated for histological analyses. Studies revealed that Zearalenol induces an intense vascular congestion in the endometrium resulting in important changes in the histological organization of the uterus. Increase in the organ size, abundant mitosis or apoptosis in epithelial cells and extensive proliferation of endometrial glands in the older animals was evident. The uterus of control animals did not show vascular changes similar to the treated ones. Mitosis and apoptosis processes were observed in 20% of non treated animals (24-30 months old).

Key words: CHINCHILLA, *ERYOMIS LANIGER*, UTERUS, ZEARALENOL.

Resumen

El propósito del presente estudio fue evaluar el efecto del zeranol sobre la estructura histológica del útero de chinchillas implantadas con este compuesto por vía subcutánea a dosis de 12 mg/ animal. Se utilizaron 30 chinchillas con las que se formaron dos grupos, uno de hembras vírgenes de 12 a 15 meses de edad y otro de hembras adultas de 24 a 30 meses de edad, con partos previos. Cada uno de estos grupos tuvo su respectivo testigo. Los animales fueron sacrificados y se obtuvieron fragmentos de útero para efectuar su evaluación histológica. En los animales implantados, de ambas edades, los hallazgos más relevantes fueron aumento de dos a tres veces las dimensiones del útero (determinado en campos microscópicos), congestión vascular en la lámina propia y en el miometrio. Asimismo, se observaron células epiteliales en mitosis o apoptosis en los animales implantados de 12 a 15 meses de edad, mientras que en las hembras con edad de 24 a 30 meses se identificaron de cuatro a cinco veces más células mitóticas o apoptóticas, respectivamente, en las hembras implantadas en relación con las no implantadas; se cuantificó un mayor número de glándulas endometriales en la mayoría de los animales implantados de ambas edades. En el endometrio de los animales no implantados no se observó congestión vascular y sólo en 20% de los animales de 24 a 30 meses de edad se observó mitosis o apoptosis. Estos resultados demuestran que el zeranol a dosis de 12 mg/ animal induce en el útero de las chinchillas jóvenes y adultas, cambios en los ámbitos vascular y tisular, característicos de un estado estrogénico predominante.

Palabras clave: CHINCHILLA, *ERYOMIS LANIGER*, ÚTERO, ZERANOL.

Recibido el 10 de enero de 2000 y aceptado el 13 de julio de 2000.

* Parte de este trabajo corresponde a la tesis de licenciatura del primer autor.

** Práctica profesional privada.

*** Departamento de Morfología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D. F.

+ Correspondencia a: M. Pérez-Martínez, Laboratorio de Biomorfología Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D. F.

Introducción

El zeranol o zearalenona constituye un anabólico natural no esteroide semisintético. Su estructura química corresponde a la familia de compuestos químicos denominados lactonas del ácido resorcílico, que se encuentra en la naturaleza como un fitoestrógeno producido por el hongo del maíz *Gibberella zeae*.¹⁻³

El zeranol constituye el principio activo del agente promotor del crecimiento ralgro.^{*1,2} Este compuesto es utilizado en diferentes países con el propósito de incrementar la ganancia de peso en el ganado y se administra a través de implantes tanto en machos como en hembras.^{1,2}

De manera empírica los criadores de chinchillas (*Eryomys laniger*) utilizan los implantes de ralgro con el propósito de inducir la estimulación de los folículos pilosos, así como de los estratos celulares de la piel. De esta manera logran disminuir el tiempo de maduración del pelaje e inducir un “acabado” uniforme.⁴⁻⁶ Sin embargo, la dosis empleada en esta especie es similar a la que se utiliza en la oveja (12 mg/animal), no obstante la enorme diferencia de peso corporal que existe entre ambas especies.⁷

La morfología del útero es regulada en gran parte por la secreción ovárica de los estrógenos y la progesterona. Bajo la influencia de estas hormonas, el útero experimenta los cambios histológicos necesarios para realizar sus funciones. Entre las modificaciones inducidas por los estrógenos destacan las de tipo vascular, como son el aumento de la permeabilidad vascular y del peso húmedo uterino.⁸ Durante el proestro y estro, el endometrio experimenta un proceso de edematización que coincide con el máximo desarrollo de los folículos ováricos, acompañado de niveles máximos de estrógenos.⁹⁻¹²

Se ha informado sobre la afinidad relativa de la zearalenona por los receptores a estrógenos en el útero y tubas uterinas de cerda y rata.^{13,14} Hace poco Medlock *et al.*¹⁴ informaron sobre los efectos de los fitoestrógenos sobre el crecimiento y desarrollo del útero de las ratas en etapa neonatal.

Hasta el momento no se ha estudiado el efecto del zeranol sobre la estructura histológica de los componentes del tracto genital femenino de la chinchilla, por lo que el presente estudio se planteó como objetivo evaluar el efecto del implante de zeranol (12 mg/animal) sobre la estructura histológica del útero de chinchillas jóvenes y adultas.

Material y métodos

Se utilizaron 30 chinchillas (*Eryomys laniger*) púberes, provenientes de un criadero comercial ubicado al sur de la ciudad de México, que fueron mantenidas en jaulas individuales y alimentadas con un concentrado comercial,** a razón de 40 g/animal/día y agua *ad libitum*. Con base en los registros del criador, los animales utilizados en el presente estudio no presentaron ningún trastorno clínico durante su desarrollo y contaban con una condición corporal adecuada a su edad al momento del experimento.

Se formaron dos grupos: *a*) Animales vírgenes de 12 y 15 meses de edad (n = 10), y *b*) animales de 24 a 30 meses de edad con partos previos (n = 10). Los animales de ambos grupos fueron implantados por vía subcutánea en la base de la oreja con una dosis de 12 mg de zeranol/animal, mediante el uso de un aplicador.*** Cada grupo tuvo su testigo correspondiente sin implantar (n = 5).

A partir del día 15 posterior a la implantación se revisaron cada ocho días los animales tratados y no tratados con el fin de identificar a aquellos que lograron la maduración de la capa del pelo. Con base en que la literatura comercial notifica que este producto se mantiene activo hasta los tres meses,¹ la revisión de la capa de pelo se efectuó hasta el día 90 postratamiento.

El criterio que se siguió para determinar la maduración de la capa del pelo consistió en revisar las capas en forma de banda, estas últimas deben observarse en circunstancias similares y en forma circular después de impulsar aire sobre un punto específico de la piel, se revisan los costados, el dorso y, de manera especial, el cuello, pues esta zona es la última en madurar.^{5,15,16}

Después de que los animales lograron la maduración del pelo, el criador utilizó como método de sacrificio una descarga eléctrica que consiste en colocar electrodos en las mucosas oral y anal. Este método lo utilizan los criadores argumentando que de esta manera no se afecta la calidad del pelaje.

Inmediatamente después del sacrificio se obtuvo el útero completo y se le fijó en formalina amortiguada salina durante 24 horas. De manera ulterior se tomaron dos fragmentos de 0.5 cm³ de la porción media de cada cuerno uterino, y se procesaron conforme el método de inclusión en parafina.¹⁷ Se efectuaron cortes de 6 µm de grosor y se tiñeron con hematoxilina/eosina y tricrómica de Masson con el fin de observar la organización histológica general del órgano.¹⁷ La evaluación histológica se llevó a cabo por una persona con el fin de evitar imprecisiones dadas por diferencias de apreciación. Para este propósito se utilizó el objetivo de 40X de un microscopio fotónico† (aumento total de 400 X) y el diámetro uterino se estimó con el objetivo panorámico (3.2X).

* Mallincrodt Veterinary®.

** Conejina Purina®.

*** Ral-O-Gun®.

† Zeiss.

En los cortes se evaluaron: El diámetro uterino (determinado en número de campos microscópicos ocupados por el órgano con el objetivo panorámico, 3.2X), el tipo de epitelio (cilíndrico simple o bien cilíndrico pseudoestratificado), el número de células en mitosis o apoptosis (expresadas como promedio de mitosis o apoptosis por cada 1 000 células epiteliales cuantificadas por animal), el número de glándulas endometriales cortadas transversalmente presentes en 10 campos histológicos al azar por animal, la presencia de linfocitos, neutrófilos y eosinófilos en una área rectangular de 20 por 40 μm (40 mediciones por animal), para este fin se utilizó una retícula ocular micrométrica (Zeiss 19), así como la presencia de congestión vascular,^{18,19} determinada como el número de vasos sanguíneos congestionados presentes en 10 campos microscópicos tomados al azar por animal.²⁰

Resultados

Animales de 12 a 15 meses de edad

Las hembras implantadas con zeranol lograron la maduración del pelo dos a tres semanas antes que las no implantadas. En las conejas implantadas se observó a nivel macroscópico un aumento en el diámetro del útero y contenido edematoso en su interior. Histológicamente el diámetro uterino de la mayoría de estos animales (70%) fluctuó entre dos y cinco campos microscópicos, mientras que en los animales no implantados de la misma edad (60%), osciló entre 1 y 1.5 campos. La mitad de las hembras implantadas presentaron epitelio de revestimiento cilíndrico simple y el resto epitelio pseudoestratificado (Cuadro 1).

En la mayoría de las muestras analizadas (60%) de los animales implantados el promedio de glándulas endometriales/10 campos/animal fue mayor en relación con los no implantados (8.4 ± 2.6 y 5.7 ± 2.1 , respectivamente) y estuvo acompañado de proyecciones de la mucosa endometrial, no obstante el escaso número de células en mitosis ($3.7 \pm 1.2/100$ células) o apoptosis ($2.4 \pm 0.9/1\ 000$ células) presentes en el epitelio luminal. Contrariamente a lo anterior, en los animales no implantados no se observó presencia de mitosis ni apoptosis (Cuadro 1).

Un hallazgo que resultó muy interesante fue que en la totalidad de los animales implantados y no implantados de ambas edades se observó presencia de linfocitos en la lámina propia. Para el caso de las hembras implantadas y no implantadas de esta edad se obtuvieron valores de $5.45 \pm 1.03/\text{área}/\text{animal}$ y $4.60 \pm 1.26/\text{área}/\text{animal}$, respectivamente. Los neutrófilos y eosinófilos se observaron únicamente de manera ocasional, por lo que no se llevó a cabo una cuantificación precisa.

Por otro lado, en la mitad de las hembras implantadas se encontró en la lámina propia un promedio de 7.8 vasos sanguíneos congestionados en 10 campos microscópicos/animal (Cuadro 1). Cabe mencionar que en cuatro de estos animales (40%) hubo presencia de hemorragia, lo que en ningún momento se observó en los animales no implantados (Figura 1).

Animales de 24 a 30 meses de edad

De manera similar al grupo de hembras jóvenes (de 12 a 15 meses de edad) las conejas implantadas lograron una semana antes la maduración del pelo, en relación con las no implantadas, por lo que el efecto del zeranol no fue tan notorio. En 70% de los animales implantados el diámetro uterino fluctuó entre dos y cuatro campos microscópicos, mientras que en los animales no implantados fue de 1 a 1.5 campos (Cuadro 2).

Más de la mitad (60%) de los animales implantados presentaron un epitelio cilíndrico simple y el resto pseudoestratificado. En las hembras no implantadas la totalidad presentó epitelio cilíndrico simple.

Se observó en 90% de los animales implantados un promedio de células epiteliales luminales en mitosis cuatro veces mayor en relación con los no implantados ($17.8 \pm 3.1/1\ 000$ células y $4.6 \pm 1.9/1\ 000$ células); mientras que la apoptosis se observó en 40% de los animales implantados y el promedio fue aproximadamente de cinco veces mayor que en los no implantados ($11.4 \pm 2.9/1\ 000$ células y $2.11 \pm 1.2/1\ 000$ células, respectivamente). La células en mitosis o apoptosis sólo se distinguió en 20% de los animales no implantados (Cuadro 2).

El promedio de glándulas endometriales en corte transversal fue mayor en 70% de los animales implantados ($9.2 \pm 3.6/10$ campos/animal) que en los no implantados ($7.1 \pm 2.5/10$ campos/animal).

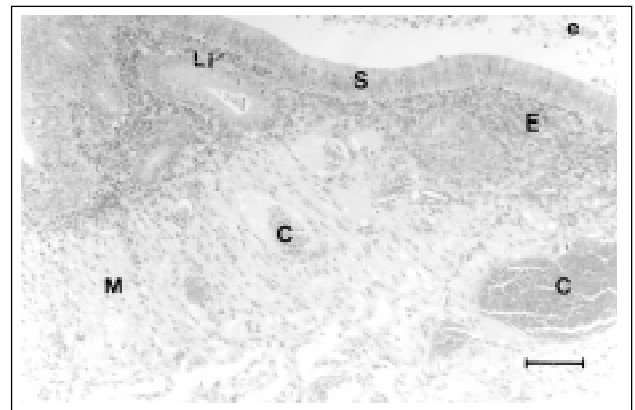


Figura 1. Útero de hembra implantada con zeranol, de 12 a 15 meses de edad. Presencia de congestión (C), edema (e), linfocitos (Li) y de epitelio pseudoestratificado (S). Endometrio (E) y miometrio (M). Barra = 100 μm .

De manera similar a lo encontrado en las hembras de 12 a 15 meses de edad en estos animales el número de linfocitos por unidad de área fue semejante en los animales implantados (4.85 ± 1.34) y no implantados (5.33 ± 1.50) en la lámina propia de tejido conjuntivo (Cuadro 2). De igual manera a los animales de 12 a 15 meses de edad, los neutrófilos y eosinófilos se observaron ocasionalmente en este grupo.

Se distinguió congestión vascular en la lámina propia del endometrio de las conejas implantadas en una proporción similar (7.0 vasos congestionados/10 campos/animal) a la del grupo de 12 a 15 meses. Dicha congestión no se observó en las hembras no implantadas.

Discusión

En las hembras implantadas con zeranol la maduración del pelo se logró en un menor tiempo en relación

con las no implantadas en ambos grupos de edad, este efecto fue más relevante en las conejas jóvenes que en las adultas, estos resultados son consistentes con los hallazgos descritos en un trabajo previo.¹⁶

Conti *et al.*²¹ sostienen la hipótesis de que los estrógenos modifican la cinética de las células del epitelio endometrial. Este proceso consiste en la migración de las células glandulares hacia el lumen.

Es conocido el efecto de los estrógenos sobre el aumento del peso húmedo del útero durante la fase estrogénica del ciclo estral²² y su efecto inductor de la maduración de las glándulas endometriales. En este sentido, se sabe que cuando los estrógenos se inyectan en el lumen uterino de rata, se presenta un incremento de agua y vasodilatación, dichos cambios corresponden a los observados en la respuesta temprana no genómica producida por los estrógenos.^{8,11,23}

De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio, se observó el efecto estrogénico del zeranol sobre las glándulas endometriales en los cortes histológicos obtenidos de los dos grupos de animales tratados. En ambos grupos se observó un desarrollo importante de dichas glándulas, acompañado de proyecciones de la mucosa endometrial.

Se sabe que los estrógenos incrementan el flujo sanguíneo uterino,⁸ este hecho sugiere que el proceso de edematización observado en las chinchillas implantadas es consecuencia de un incremento en el aporte sanguíneo de este órgano. Dicho hallazgo constituye una evidencia importante del efecto estrogénico del zeranol.

En roedores la administración de estrógenos induce una rápida infiltración uterina de leucocitos.¹⁰ En dicho fenómeno de migración ocurren interacciones complejas entre varios tipos celulares, e involucra no sólo el tránsito leucocitario sino también se ha observado su activación y la síntesis concomitante de diversos mediadores solubles, como las citocinas. Estas moléculas de naturaleza proteínica participan en la comunicación intercelular durante el proceso inflamatorio²⁴ y en diversos procesos fisiológicos del útero.^{25,26}

Un hallazgo que atrae la atención en el presente estudio, es la presencia de leucocitos, tanto en la lámina propia como en el tejido conjuntivo localizado entre las capas del miometrio. Esta infiltración estuvo dada principalmente por linfocitos y de manera ocasional por neutrófilos y eosinófilos, lo que se observó en ambos rangos de edad tanto en los animales implantados como en los no implantados. Resulta importante destacar que esta localización de los linfocitos también se ha observado de manera constante en el útero de la cerda y cabra.^{27,28}

Con relación a lo anterior, se sabe que el dietilelbestrol (DES) influye sobre la dinámica funcional de las células de órganos de la respuesta inmune como son el timo, la médula ósea y el bazo de ratones seniles.²⁹

Cuadro 1

HALLAZGOS HISTOLÓGICOS EN EL ÚTERO DE CHINCHILLAS PÚBERES (*Eryomys laniger*) IMPLANTADAS CON ZERANOL (12 mg/ animal) Y NO IMPLANTADAS ANIMALES DE 12 A 15 MESES DE EDAD

Parámetro evaluado	Grupo	
	Animales implantados *, X ± D.E.	Animales no implantados *, X ± D.E.
Diámetro uterino	2-5 campos microscópicos (7/10)*	1-1.5 campos microscópicos (3/5)*
Epitelio cilíndrico simple	(5/10)*	(3/5)*
Epitelio cilíndrico-seudoestratificado	(5/10)*	(2/5)*
Mitosis en epitelio luminal/ 1 000 células/animal	3.7 ± 1.2 (3/10)*	Ausente
Apoptosis en epitelio luminal/ 1 000 células/animal	2.4 ± 0.9 (2/10)*	Ausente
Glándulas endometriales/10 campos/animal.	8.4 ± 2.6 (6/10)*	5.7 ± 2.1 (2/5)*
Linfocitos/unidad de área en lámina propia	5.4 ± 1.03 (10/10)*	4.6 ± 1.2 (5/5)*
Congestión vascular (vasos sanguíneos congestionados/ 10 campos/animal).	7.8 ± 1.7 (5/10)*	Ausente

* Animales en los que se encontró el parámetro indicado en relación con el total.

Se ha propuesto que el zeranol actúa sobre el eje hipotálamo-hipofisiario a nivel de los receptores a estrógenos, con base en lo anterior se piensa que posiblemente compita por el receptor a estrógenos, debido a que en la oveja, cerda, rata y mujer tiene afinidad por los receptores intracelulares a estrógenos. Asimismo, se ha propuesto que esta actividad estrógeno-mimética es la responsable de que el zeranol tenga una función antigonadotrópica.^{1,13}

En el útero de ratas neonatas se ha observado desarrollo y crecimiento de dicho órgano después de la administración de fitoestrógenos.¹⁴ De manera similar se ha informado que la administración de zearalenona en hembras neonatas de ratones, induce claros efectos estrogénicos, incluso después de efectuada la ovariectomía y adrenalectomía, lo anterior refuerza la idea de la unión específica de este compuesto con los receptores a estrógenos.³⁰

Los resultados obtenidos en el presente estudio aportan una fuerte evidencia respecto de la acción estrogénica del zeranol sobre el tejido uterino de la chinchilla, utilizado a la dosis empírica de 12 mg/animal. Lo anterior permite que se revisen los efectos que pudieran inducir este compuesto a nivel tisular, en las especies de abasto en las que se utiliza como anabólico, debido a que pudiera afectar la función del sistema reproductivo.

Agradecimientos

Los autores agradecen al técnico en histología Emilio Francisco López López su colaboración valiosa en el procesamiento de las muestras utilizadas en el presente estudio.

Referencias

1. Gimeno EJ. Informe zeranol, referencias sobre su seguridad y eficacia. Buenos Aires, Argentina: Sociedad de Medicina Veterinaria, 1986.
2. Anónimo. Ralgro. International Minerals and Chemical Corporation. Indiana (II): 1970.
3. Gómez RLH. Anabólicos esteroidales y no esteroidales. Revisión bibliográfica (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1984.
4. Medrano LA. Estudio comparativo del efecto anabólico del laurato de nandrolona y del zeranol sobre el promedio de la ganancia diaria de peso en conejos domésticos recién destetados (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1995.
5. Graw J. La chinchilla. 3a ed. Buenos Aires, Argentina: El Ateneo, 1986.
6. Thompson J. Ralgro. Cinchatter 1992;40:5-6.
7. Ganong FW. Fisiología médica. 13a ed. México (DF): El Manual Moderno, 1992.
8. Tchernitchin A. Characterization of the estrogen receptors in the uterine and blood eosinophil leucocytes. *Experientia* 1988;32:1 240-1 242.
9. Banks WJ. Histología veterinaria aplicada. 2a ed. México (DF): El Manual Moderno, 1994.
10. Hafez ES. Reproducción e inseminación artificial en animales. 5a ed. México (DF): Interamericana, 1989.
11. Keys JL, King GJ. Effects of tropical and systemic estrogen on morphology of porcine uterine luminal epithelia. *Biol Reprod* 1992;46:1165-1175.
12. Krishna A, Beesley K, Terranova P. Histamine, mast cells and ovarian function. *J Endocrinol* 1989;120:367-371.
13. Fitzpatrick DW, Picken CA, Murphy LC, Buhr MM. Measurement of the relative affinity of zearalenone, alpha-zearalenol and beta-zearalenol for uterine and oviduct estrogen receptors in swine, rats and chickens: an indicator of estrogenic potencies. *Biochem Physiol Comp Pharmacol Toxicol* 1989;94:691-694.
14. Medlock KL, Branham WS, Sheehan DM. The effects of phytoestrogens on neonatal rat uterine growth and development. *Proc Soc Exp Biol Med* 1995;208:307-313.
15. Parodi O. La chinchilla. Buenos Aires, Argentina: Albatros, 1987.

Cuadro 2

HALLAZGOS HISTOLÓGICOS EN EL ÚTERO DE CHINCHILLAS PÚBERES (*Eryomis laniger*) IMPLANTADAS CON ZERANOL (12 mg/ animal) Y NO IMPLANTADAS ANIMALES DE 24 A 30 MESES DE EDAD

Parámetro evaluado	Grupo	
	Animales implantados *, X ± D.E.	Animales no implantados *, X ± D.E.
Diámetro uterino	2-4 campos microscópicos (7/10)*	1-1.5 campos microscópicos (3/5)*
Epitelio cilíndrico simple	(6/10)*	(5/5)*
Epitelio cilíndrico-seudoestratificado	(4/10)*	Ausente
Mitosis en epitelio luminal/ 1 000 células/animal	17.8 ± 3.1 (9/10)*	4.6 ± 1.9 (1/5)*
Apoptosis en epitelio luminal /1 000 células/animal	11.4 ± 2.9 (4/10)*	2.11 ± 1.2 (1/5)*
Glándulas endometriales/10 campos/animal	9.2 ± 3.6 (7/10)*	7.1 ± 2.5 (2/5)
Linfocitos/unidad de área/ animal.	4.8 ± 1.3 (10/10)*	5.3 ± 1.5 (5/5)*
Congestión vascular (vasos sanguíneos congestionados/ 10 campos/animal).	7.0 ± 1.6 (4/10)*	Ausente

* Animales en los que se encontró el parámetro indicado en relación con el total.

16. Badillo BI, Fernández RR, Ulloa AR. Efecto del zeronol sobre la maduración de la piel en chinchilla lanígera (*Eryomys laniger*). *Vet Méx* 1999;30:63-66.
17. Flores EE, Zamora LP. Manual de técnicas histológicas. México (DF): AGT Editor, 1982.
18. Johannisson E, Parker RA, Landgren BM, Diczfalusy E. Morphometric analysis of the human endometrium in relation to peripheral hormone levels. *Fertil Steril* 1982;38:564-571.
19. Johannisson E, Landgren BM, Rhor HP, Diczfalusy E. Endometrial morphology and peripheral hormone levels in women with regular menstrual cycles. *Fertil Steril* 1987;48:401-408.
20. Bjorklund TK, Landgren BM, Johannisson E. Morphometric studies of the endometrium, the Fallopian tube and the corpus luteum during contraception with the 300 µg norethisterona (NET) minipilli. *Contraception* 1996;43:459-474.
21. Conti J, Gimenez-Conti B, Conner EA, Lehman JM, Gerschenso E. Estrogen and progesterone regulation of proliferation, migration and loss in different target cells of rabbit uterine epithelium. *Endocrinology* 1984;114:345-351.
22. Brenner RM, West NB. Hormonal regulation of the reproductive tract in female mammals. *Ann Rev Physiol* 1975;37:273-303.
23. Pastore GN, DiCola LP, Dollahon NR, Gardner RM. The effect of estradiol on collagen structure and organization in the immature rat uterus. *Proc Soc Exp Biol Med* 1989;191:69-77.
24. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. *Inmunología celular y molecular*. Madrid, España: Mc-Graw-Hill, 1995.
25. Díaz-Flores M, Baiza-Gutman LA, Hicks JJ. Los nuevos moduladores endometriales en el embarazo temprano. *Gac Méd Méx* 1996;132:519-528.
26. Simon C, Moreno C, Remohi J, Pellicer A. Cytokines and embryo implantation. *J Reprod Immunol* 1998;39:117-131.
27. Lavielle RE, Pérez-Martínez M, Hernández GR, Martínez MJ. Cuantificación de células plasmáticas en el cuello uterino de cerda, en la fase folicular y lútea del ciclo estral. *Vet Méx* 1994;25:29-31.
28. Pérez, MM. Estudio del estadio reproductivo de la cabra doméstica (*Capra hircus*) y su relación con la distribución de células inmunológicas de la mucosa del tracto genital femenino (tesis doctoral). México (DF) México: Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, 1999.
29. Smith BJ, Holladay SD. Immune alterations in geriatric mice dosed with diethylstilbestrol (DES). *J Appl Toxicol* 1997;17:265-271.
30. Ito Y, Ohtsubo K. Effects of neonatal administration of zearalenone on the reproductive physiology of female mice. *J Vet Med Sci* 1994;56:1155-1159.