



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA**

Trabajo Final presentado para optar al Grado de Médica Veterinaria
Modalidad: Monografía

**GONADECTOMÍA EN CANINOS Y SU IMPACTO EN EL
SISTEMA INMUNOLÓGICO Y ENDÓCRINO**

Lanza Marianella
DNI: 39.736.734

Directora: MV. MSc. Benzoni Anabela
DNI: 28.821.240

**Río Cuarto - Córdoba
2023**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO FACULTAD DE
AGRONOMÍA Y VETERINARIA**

CERTIFICADO DE APROBACIÓN

**GONADECTOMÍA EN CANINOS Y SU IMPACTO EN EL SISTEMA
INMUNOLÓGICO Y ENDÓCRINO**

Autor: Lanza Marianella

D.N.I: 39.736.734

Directora: Msc. Benzoni Anabela

Aprobado y corregido de acuerdo con las sugerencias de la Comisión Evaluadora:

Dra. Bertone Patricia

Esp. Caffaratti Marina

Msc. Benzoni Anabela

Fecha de presentación:

_____/_____/_____

Secretario Académico

AGRADECIMIENTOS

Esta monografía me permitió introducirme en el mundo de la lectura y de la búsqueda bibliográfica, me invitó a seguir investigando día a día, a seguir formándome como profesional para poder brindar calidad de vida y bienestar a nuestros pacientes, por ello quiero agradecer a todos los que fueron parte de este proceso y me permitieron estar aquí hoy realizando este trabajo para poder graduarme y cumplir mi sueño.

A mi familia por acompañarme y apoyarme incondicionalmente.

A mis compañeros y amigos que me regaló esta bella universidad.

A los docentes que tuve el placer de conocer, por compartir su sabiduría.

A mi directora de tesis, Profesora Benzoni Anabela, por toda su entrega, apoyo y acompañamiento en esta hermosa etapa.

¡Muchas gracias a todos!

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
FUNDAMENTACIÓN	5
OBJETIVOS	6
Objetivo general:	6
Objetivos específicos:	6
METODOLOGÍA DE TRABAJO	7
DESARROLLO	8
Sistema inmune del perro	8
Fisiología del eje hipotálamo- hipófisis- gonadal	10
Dimorfismo sexual y comunicación neuroinmunoendócrina	12
Gonadectomía en perros	20
Edad para realizar la gonadectomía	23
CONCLUSIÓN	26
BIBLIOGRAFÍA	27

RESUMEN

La gonadectomía o castración quirúrgica es una técnica muy utilizada en la práctica veterinaria, aplicada para el control reproductivo de caninos y felinos. La misma permite mantener un control poblacional, prevenir ciertas patologías y problemas de comportamiento. En los últimos años se ha descubierto que el sistema reproductivo e inmunológico son altamente interdependientes y que, a su vez, las células del sistema inmunológico reciben influencia del sistema endócrino. También se ha demostrado que existe un dimorfismo inmunológico, siendo los estrógenos los responsables de estas diferencias entre géneros. Por ello, a la hora de recomendar castrar un canino, debemos contemplar raza, sexo y edad.

ABSTRACT

Gonadectomy or surgical castration is a technique widely used in veterinary practice, applied for the reproductive control of canines and felines. It allows maintaining population control, preventing certain pathologies and behavioral problems. In recent years it has been discovered that the reproductive and immunosuppressive systems are highly interdependent and that, in turn, the cells of the immune defense system receive influence from the endocrine system. It has also been shown that there is immunological dimorphism, with estrogens being responsible for these differences between genders. Therefore, when recommending castrating a canine, we must consider breed, sex and age.

INTRODUCCIÓN

La gonadectomía o castración quirúrgica es una técnica aplicada para el control reproductivo de caninos y felinos. La misma consiste en la extirpación de los ovarios y testículos y es considerada como una de las condiciones que establece la tenencia responsable de los animales de compañía (Sánchez *et al.*, 2019).

En la actualidad, es uno de los procedimientos más realizados dentro de la cirugía de pequeños animales, debido a que permite mantener un control poblacional y previene ciertas patologías y problemas de comportamiento (Diesel *et al.*, 2010; Kustritz, 2012). Se asocia con una mayor esperanza de vida; sin embargo, en comparación con los perros intactos, los perros castrados han registrado mayor riesgo de muerte por cáncer y enfermedades inmunomediadas y menos por infecciones, traumatismos y enfermedades vasculares (Kustritz, 2012).

El sistema reproductivo y el sistema inmunológico son altamente interdependientes. Los esteroides sexuales son muy importantes en la función inmunológica para el autorreconocimiento de los tejidos (Sundburg *et al.*, 2016).

Ahmed (1985) menciona que existe una mayor presentación de enfermedades autoinmunes en hembras con respecto a los machos. Se ha establecido que la base de esta susceptibilidad, está relacionada con el sexo debido a los efectos de las hormonas sexuales. Éstas influyen en el inicio y la gravedad de las condiciones patológicas inmunomediadas mediante la modulación de los linfocitos en todas las etapas de la vida, prenatal, prepuberal y pospuberal.

Las hormonas sexuales también pueden influir en el sistema inmunitario al actuar en varios sitios diana no clásicos, como el propio sistema inmunitario (órganos linfoides no tímicos), el sistema nervioso central, el sistema macrófago-macrocito y el sistema esquelético (Ahmed *et al.*, 1985).

Los tejidos inmunes, como el timo, los ganglios linfáticos y el bazo, muestran receptores de esteroides gonadales (Grossman, 1985).

En los pocos estudios que evaluaron la gonadectomía, la esterilización de ratones machos y hembras resultó en hiperplasia del tejido tímico y linfoide (Kustritz, 2012). En el desarrollo normal, el timo comienza a involucionar después de la pubertad como consecuencia de los esteroides gonadales elevados; la involución es responsable de la disminución de la función inmune asociada con la edad (Hirokawa *et al.*, 2013). La retirada de los esteroides mediante gonadectomía puede revertir la involución, aunque los animales más viejos pueden responder menos (Utsuyama *et al.*, 1995). Además, la hiperplasia tímica se ha asociado con enfermedades autoinmunes (Murakami *et al.*, 1996), lo que sugiere que la gonadectomía puede potenciar la expresión de enfermedades inmunomediadas.

Se demostró que la ovariectomía en ratas, aumenta los auto-anticuerpos contra la tiroglobulina (Murakami *et al.*, 1996). Esto se asocia con un aumento persistente de las concentraciones sanguíneas de gonadotropinas (Lofstedt y Van Leeuwen, 2002), muchas de las cuales comparten configuración molecular con TSH en cadenas de subunidades de proteínas y en glicosilación. En el estudio mencionado

se planteó la hipótesis, de que las altas concentraciones persistentes de gonadotropinas dan lugar a una formación alterada de TSH y a un cambio en la función tiroidea.

Además, los estudios con ratones han demostrado que la gonadectomía afecta el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal de una manera específica según el sexo. En machos castrados producen mayores cantidades de corticosterona de la glándula suprarrenal (Gaillard y Spinedi, 1998). La falta de regulación negativa de los esteroides sexuales o el aumento de las concentraciones sanguíneas de gonadotropinas causan hiperplasia de las glándulas suprarrenales y lesiones neoplásicas (Schoemaker *et al.*, 2002).

La esterilización ha demostrado beneficios, como evitar la reproducción no deseada en los perros (Kustritz, 2012), la reducción de la incidencia de neoplasias reproductivas y el aumento de la esperanza de vida, sin embargo, se debe tener en cuenta el papel de la misma en las funciones inmunológicas y contemplarlas al momento de recomendar castrar a un canino, considerando el sexo y raza.

FUNDAMENTACIÓN

La castración es una práctica aceptada, como método de prevención de ciertos tumores, principalmente de mamas y como herramienta de control poblacional. Pese a su gran aplicación existen pocos informes que la asocien con el desarrollo de trastornos inmunitarios y endócrinos.

En los últimos años, algunos investigadores han registrado la correlación entre la presentación de enfermedades inmunitarias y endócrinas en animales castrados.

Es por ello, que resulta de interés investigar en esta tesis monográfica las posibles relaciones que existan entre los ejes endócrino-inmunitario-reproductor, y profundizar sobre la influencia de la castración en ellos, principalmente enfocada al sexo y raza de los caninos.

OBJETIVOS

Objetivo general:

- Explorar las relaciones entre gonadectomía y los sistemas inmunológico y endócrino en caninos

Objetivos específicos:

- Describir las relaciones entre el sistema inmunitario, endócrino y reproductivo del canino
- Describir el concepto de gonadectomía y aspectos relacionados a sus ventajas y desventajas
- Explorar la posible asociación entre castración y enfermedades endócrinas e inmunitarias

METODOLOGÍA DE TRABAJO

Para elaborar esta monografía se realizó la búsqueda y selección de la información, para lo cual se formularon distintas preguntas que guiaron este proceso y a posterior estructuraron la escritura del trabajo. Las preguntas a responder con el desarrollo de esta monografía fueron:

¿Influye la castración con el eje endócrino o con el eje inmunológico?, ¿Hay alguna asociación con las razas o con el sexo?, ¿Hay alguna edad específica para realizar la gonadectomía?, ¿Existen publicaciones que documenten el impacto de la gonadectomía en el sistema inmunológico y endócrino?

Luego, se procedió a la realización de una búsqueda bibliográfica actualizada por medio del uso de palabras claves, tales como: gonadectomía, hormonas sexuales, sistema inmunológico, sistema reproductor, dimorfismo sexual, hipotiroidismo, hipoadrenocorticismos, endocrinopatías, caninos, etc. Las mismas fueron utilizadas en distintos buscadores de internet y páginas oficiales como:

- Google académico (<https://scholar.google.es/schhp?hl=es>)
- Scielo (<https://scielo.org/es/>),
- Elsevier (<https://www.elsevier.es/es>),
- Library Genesis (<https://libgen.is/>).

Para el desarrollo de este trabajo se ha realizado una exhaustiva revisión bibliográfica de literatura diferente: libros, artículos de revistas científicas, entre otros.

Una vez realizada la búsqueda se descartaron los documentos que no presentaban acceso libre al texto completo, los que contenían información irrelevante para este trabajo o los que estaban en idiomas distintos al español, portugués, inglés, etc.

Los datos obtenidos en la bibliografía se analizaron en función de distintas variables (raza, edad, sexo), que fueron consideradas las más importantes a la hora de evaluar y comparar las distintas alternativas.

DESARROLLO

Sistema inmune del perro

La hembra canina es un animal múltiparo, con una gestación que posee una duración de 65 días aproximadamente, pero la organogénesis se inicia a los 21 días (Pieri *et al.*, 2015). El sistema inmunitario comienza con la formación del timo a partir del tercer par de bolsas faríngeas y la posterior formación de órganos linfoides secundarios, continuando en el período posnatal (Hyttel *et al.*, 2010). Dicho sistema es el encargado de determinar la supervivencia de los individuos mediante múltiples mecanismos de defensa que evitan el desarrollo de enfermedades (Tizard, 2017).

La maduración del sistema inmunológico ocurre desde el nacimiento hasta aproximadamente los seis meses de edad. Aunque al cachorro se lo considera inmunocompetente entre las 6 y 12 semanas de vida, no se puede predecir el inicio de la inmunocompetencia, ya que depende de la presencia de anticuerpos derivados de la madre (MDA) (Day, 2007).

Durante la preñez, en el período de preimplantación embrionaria canina, los embriones promueven un entorno inmunitario uterino que previene ataques del sistema inmune materno y se preparan para su propia adhesión, anidación y desarrollo posterior (Schäfer-Somi *et al.*, 2008; Schäfer-Somi *et al.*, 2012). El timo materno sufre una involución inducida por la preñez que se caracteriza por una disminución de células linfoides y no linfoides del timo (Laan *et al.*, 2016). Esto contribuye a la supresión inmunitaria de la hembra frente a los antígenos fetales. Además, la involución cortical asociada a la preñez, permite la eliminación de linfocitos T reactivos, promoviendo la tolerancia inmunológica hacia el feto (Pereyra *et al.*, 2019).

Las hormonas de la preñez como la progesterona y el 17-estradiol son inmunomoduladoras, con gran influencia sobre las células inmunitarias y la producción de citoquinas (Schumacher *et al.*, 2014). Durante la gestación temprana, hay un aumento de las concentraciones séricas de IL-4 e IL-10 antiinflamatoria, inducidas por la progesterona, un potente inhibidor de la respuesta proinflamatoria. Entre los 30 y 40 días de gestación, la concentración de citoquinas antiinflamatorias disminuye por el aumento de la prolactina, y, por último, durante la tercera fase de la gestación aumenta la IL-10, probablemente por el incremento del 17 estradiol (Pantaleo *et al.*, 2013).

La inmunidad innata se forma durante el desarrollo del embrión y el feto, en contraste, la inmunidad adquirida sólo se completa en el período posnatal, debido a la evolución del linaje de células de linfocitos y la mejora del reconocimiento del antígeno después del nacimiento. El timo, médula ósea y placas de Peyer, son órganos linfoides primarios que regulan el desarrollo inicial y la maduración de las células inmunitarias (Hyttel *et al.*, 2010).

El sistema linfático y cardiovascular son fundamentales para el sistema inmunitario, éstos conducen antígenos y células presentadoras de antígenos (CPA) a los ganglios linfáticos e inician la respuesta inmunitaria (Alitalo y Carmeliet, 2002). Las CPA, establecen un vínculo entre la respuesta

inmunitaria innata y la adaptativa permitiendo a los linfocitos el reconocimiento de los antígenos presentados por dichas ellas. Las células dendríticas (CD) son células centinela presentes en casi todo el cuerpo y son potentes CPA, capaces de estimular células T vírgenes, mientras que los macrófagos y linfocitos B son CPA menos potentes (Tizard, 2017). Las células T secretan citoquinas y se diferencian en células T efectoras y de memoria, éstas se pueden clasificar como Th1, Th2 y Th17. Las células Th1 son estimuladas por la IL-12 y producen citoquinas proinflamatorias IL-2 e IFN- γ , que participan en respuestas inmunitarias celulares. Las células Th2 son estimuladas por la IL-1 y producen citoquinas antiinflamatorias IL-4, IL-10 e IL-13, y participan en respuestas inmunitarias humorales (Mesquita *et al.*, 2010; Tizard, 2017). Las células T supresoras o T reguladoras (Tregs) son las encargadas de mantener la tolerancia inmunológica y la homeostasis; pueden inhibir la activación, la proliferación y las funciones efectoras de una amplia gama de células inmunitarias (Pereyra *et al.*, 2019). Por otro lado, las células B, una vez que son estimuladas, se diferencian en células de memoria y células plasmáticas, produciendo IgM y luego IgG, IgA e IgE (Mesquita *et al.*, 2010; Tizard, 2017).

En caninos, al igual que en gatos, alrededor de los 17 días gestación se forma el sistema cardiovascular (Abreu *et al.*, 2011; Roballo *et al.*, 2013). El hígado fetal representa el tejido hematopoyético inicial en la gestación temprana y es responsable de la expansión del linaje de células progenitoras del sistema inmunitario (Holsapple *et al.*, 2003), que se puede visualizar mediante técnicas microscópicas alrededor de los 26 a 27 días de gestación (Pieri *et al.*, 2015).

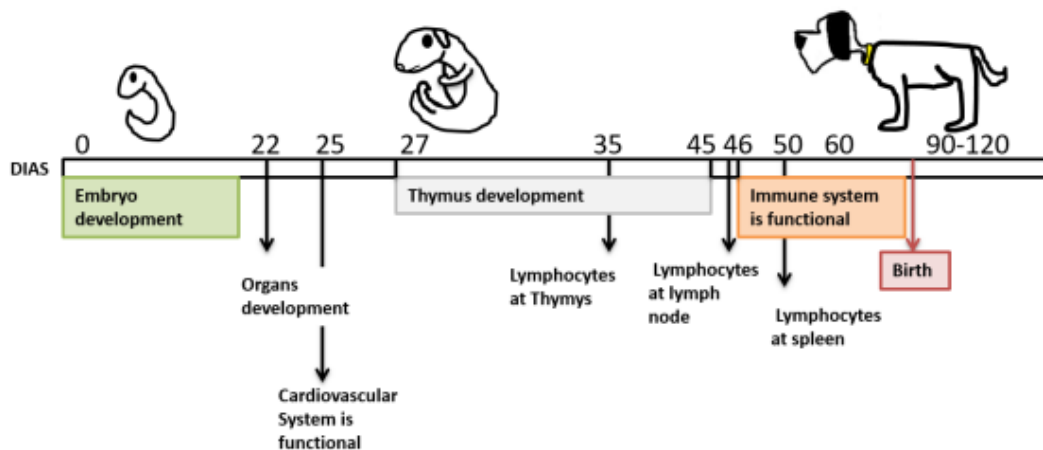


Figura 1. Esquema del desarrollo del sistema inmunológico. En perros después de la embriogénesis del sistema cardiovascular comienza el desarrollo de los órganos del sistema inmunológico (tercio medio de la gestación), y la activación (final del tercio de gestación). Fuente: Roballo *et al.* 2019.

Entre los días 27 y 28 de gestación se evidencian los primordios de bazo y timo. Entre los días 35 y 40, el timo se vuelve activamente linfopoyético. Para el día 45, el microambiente tímico posee una apariencia histológica posnatal normal. La infiltración linfocítica de los ganglios linfáticos y el bazo con evidencia de zonas dependientes de células T es notorio entre los días 45 y 52. Durante este mismo tiempo, la médula ósea se vuelve muy celular y contiene abundantes células madre hematopoyéticas.

Las placas de Peyer están presentes en el intestino delgado entre los días 45 y 55 (Felsburg *et al.*, 2002). A los 45 a 50 días de gestación, los linfocitos están presentes en todos los órganos principales del sistema inmunitario al final de la gestación (Roballo *et al.*, 2019).

Los centros germinales y las células plasmáticas aparecen en bazo y ganglios linfáticos después del nacimiento (Prümmer *et al.*, 1985; Felsburg *et al.*, 2002) mientras que el timo en perros, alcanza su tamaño máximo a los seis meses de edad. Luego, durante la madurez sexual (entre los 6 y los 23 meses), el órgano sufre una involución, caracterizada por disminución del parénquima, el cual es reemplazado por tejido adiposo, conectivo y estructuras epiteliales (Haley, 2003).

Aunque los fetos de perro son capaces de responder a varios antígenos, sólo serán capaces de generar una respuesta inmune en el último tercio de la gestación (Hyttel *et al.*, 2010). De todas formas, al igual que en los humanos, la maduración de la respuesta inmunitaria continúa después del nacimiento (Felsburg *et al.*, 2002).

Según Roballo *et al.* (2019), en el canino los principales órganos inmunitarios, están formados alrededor de los 45 a 50 días de gestación. El feto canino posee un sistema funcional de linfocitos (células B y T) capaces de generar respuestas inmunitarias humorales y celulares contra antígenos, lo que sugiere que son inmunocompetentes al nacer (Pastoret *et al.*, 1998; Faldyna *et al.*, 2005; Day, 2007). Después del nacimiento, los animales están expuestos a antígenos externos que estimulan al sistema inmunitario, induciendo la activación y redistribución de linfocitos periféricos (Faldyna *et al.*, 2005).

Fisiología del eje hipotálamo- hipófisis- gonadal

La hembra canina puede definirse como una especie monoéstrica (experimentan estro una vez por año), no estacional, politoca, con ovulación espontánea y con una fase lútea de larga duración seguida de un anestro obligado (Concannon, 2011).

La pubertad se define como el inicio de la vida reproductiva, que en la hembra suele estar marcada por el inicio de la actividad ovárica (Reece *et al.*, 2015). En la hembra canina dicho evento comienza con el primer proestro y se correlaciona con el momento en que alcanza la talla de adulto. Esto puede ocurrir entre los 6 y los 14 meses de edad en la mayoría de las razas (Concannon, 2011). La madurez sexual o máxima capacidad reproductiva es alcanzada en el segundo, tercer o cuarto celo (Stornelli y Sota, 2016).

El ciclo reproductivo de la perra doméstica, puede describirse en base a los cambios de comportamiento clínicos, fisiológicos, citológicos y endocrinológicos ocurridos en ella. El mismo incluye cuatro estadios: proestro, estro, diestro y anestro, considerándose como día cero del ciclo al pico preovulatorio de LH (Concannon, 2011).

Luego de la ocurrencia del ciclo estral se produce un período de anestro de duración variable, dando un intervalo entre los ciclos que oscila entre 5 y 12 meses con un promedio de 6 a 7 meses. El período de proestro y comportamiento de estro es prolongado y variable (3-20 días). El inicio del

comportamiento de estro puede ser 5 días antes de la ovulación o 3 días después. En la hembra canina, en contraste con la mayoría de los otros mamíferos, la maduración de los ovocitos ocurre en el oviducto 2 días después de la ovulación, momento en el cual podrán ser fecundados (Concannon, 2011).

En esta especie no existe un mecanismo luteolítico, por lo tanto, la progesterona (P4) permanece elevada durante la fase lútea en la hembra vacía, aproximadamente 75 días (Concannon, 2009).

La actividad gonadal está bajo el control del hipotálamo, el cual secreta una hormona peptídica que es sintetizada en las neuronas del núcleo arcuato y área preóptica, denominada hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), ésta se libera de manera pulsátil en el sistema portal hipotálamo-hipofisario, permitiendo que se estimule la glándula pituitaria anterior (Meethal y Atwood, 2005). Esta última promueve la liberación de manera episódica de la hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH) (Beijerink *et al.*, 2007).

La FSH circula hacia el ovario y permite que, por medio del estímulo directo sobre la pared de las células de la granulosa del folículo en desarrollo, uno o más folículos comiencen a madurar y secreten estrógeno. El estrógeno puede influir en el crecimiento del útero y glándula mamaria (Reece *et al.*, 2015).

Por otro lado, la LH es importante para el proceso de ovulación y posterior luteinización de las células de la granulosa, proceso necesario para la formación del cuerpo lúteo (CL). Dicho CL, produce progesterona, la cual es vital para preparar al útero para la posible implantación del concepto (Reece *et al.*, 2015). La LH, además, estimula la secreción de hormonas esteroides gonadales (testosterona en los machos y estrógeno/progesterona en las hembras). Estas hormonas esteroides gonadales luego retroalimentan negativamente al hipotálamo y la hipófisis anterior para disminuir la secreción de GnRH y LH, respectivamente (Beijerink *et al.*, 2007).

Los estrógenos, hormonas compuestas de colesterol y químicamente desarrollados como esteroides, son producidos por las glándulas suprarrenales, placenta, testículos (en macho), folículos y en menor proporción en otros órganos del cuerpo (Espinoza *et al.*, 2013).

En la hembra canina se encuentran 3 tipos de estrógenos: el estriol, la estrona y el estradiol. La función principal de los estrógenos es provocar la proliferación celular y el crecimiento de los tejidos relacionados con la reproducción, pero también poseen otras funciones dentro de las que cabe mencionar: estimulación del crecimiento de la glándula endometrial y de conductos en la glándula mamaria; aumento de la actividad secretora de los conductos uterinos; iniciación de la receptividad sexual; regulación de la secreción de LH por la glándula pituitaria anterior; regulación de la liberación de PGF2 α del útero no grávido y grávido; unión temprana de la epífisis con las diáfisis de los huesos largos; anabolismo de proteínas y actividad epiteliotrópica, la cual se manifiesta en el estro cuando el epitelio de la vagina prolifera y la cornificación es más frecuente (Reece *et al.*, 2015).

En los perros machos, las células de Leydig y Sertoli son las responsables de la producción de hormonas dentro de los testículos. La FSH se une a receptores específicos de las células de Sertoli y estimula la producción de la proteína fijadora de andrógenos (ABP). Dicha proteína se secreta en la luz

de los túbulos seminíferos y se une a la testosterona y otros andrógenos para estabilizar sus concentraciones y completar el proceso de la espermatogénesis. Las células de Sertoli, además, producen una hormona conocida como inhibina, la cual inhibe la síntesis y secreción de FSH por la adenohipófisis (Reece *et al.*, 2015).

La LH, por su parte, estimula a las células de Leydig, localizadas en el intersticio testicular, para que produzcan testosterona. La misma es necesaria para mantener la espermatogénesis, promoviendo una mayor producción y maduración de los espermatozoides. Además de su actividad espermatogénica, la testosterona cumple con otras funciones en la circulación periférica, tales como: promover el desarrollo de las características sexuales secundarias, desarrollo y mantenimiento de la libido, actividad secretora de las glándulas sexuales accesorias y el crecimiento muscular. Los niveles elevados de testosterona en sangre retroalimentan negativamente al hipotálamo para disminuir la secreción de GnRH, FSH y LH en el macho (Reece *et al.*, 2015).

Las células de Leydig, también permiten la aromatización de andrógenos a estrógenos, en donde estos últimos, favorecen la reabsorción a nivel epididimal de fluidos, coadyuvan en el transporte de espermatozoides y a su vez, tienen efectos sobre la libido por ende erección y monta (Espinoza *et al.*, 2013).

Dimorfismo sexual y comunicación neuroinmunoendócrina

El sistema inmunitario, endócrino y nervioso central están integrados a través de una red de moléculas señalizadoras como citoquinas, hormonas y neurotransmisores, que actúan sobre un conjunto común de receptores y, además, reciben influencia de péptidos neuroendócrinos y otros metabolitos (Bouman *et al.*, 2005). A su vez, existe una compleja interacción con el sistema reproductivo (Berczi *et al.*, 1998; Yamaguchi *et al.*, 2001), que se atribuye a las hormonas sexuales y sus receptores hormonales en las células inmunitarias (Wira y Sandoe, 1980).

Además de los diferentes factores inmunes implicados en la regulación de la compleja red inmunoendócrina, el género puede ser un factor importante en determinar el patrón de secreción de moléculas clave de la respuesta inmunológica, como las citoquinas. Se sugiere que los esteroides sexuales pueden ser los responsables de estas diferencias entre género (Giron-Gonzalez *et al.*, 2000). Los mismos, participan en la comunicación neuroinmunoendócrina, permitiendo el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios, promoviendo la fertilidad, modulando el estado de ánimo, la masa ósea, la presión arterial, la neuroprotección frente a enfermedades neurodegenerativas, pero, sobre todo, las funciones de varios tipos celulares dentro del sistema inmune (Whitacre *et al.*, 1999; Roberts *et al.*, 2001).

Las hormonas sexuales femeninas tienen una fuerte influencia en la producción y el funcionamiento de las células y moléculas del sistema inmunitario (Calippe *et al.*, 2008). Tanto el estradiol como la progesterona, influyen en la mayoría de los componentes de la inmunidad innata y

adquirida (Besedovsky, 1996; Beagley y Gockel, 2003). Las mismas forman parte de una extensa red de comunicación y coordinan diversos procesos biológicos, tales como el metabolismo, la reproducción y el desarrollo de respuestas inmunes. Además, aumentan la cantidad de células inmunitarias circulantes y promueven la apoptosis o producción de nuevas células de la médula ósea (Bhatia *et al.*, 2014).

Los efectos del estradiol sobre el sistema inmune son variados, y su participación se entiende como la suma de efectos sobre los distintos tipos celulares que intervienen en las respuestas inmunes, como células Natural Killer (NK), macrófagos, mastocitos y linfocitos. Además, modula la resistencia a infecciones parasitarias (Roberts *et al.*, 2001; Morales-Montor *et al.*, 2002; Blander, 2007).

El efecto de las hormonas sexuales sobre la inmunidad está mediado directamente por su acción sobre las células inmunitarias y epiteliales e indirectamente al estimular la secreción del factor de crecimiento de las células del estroma, e influir sobre organismos comensales. Las células de los sistemas inmunitarios innatos y adaptativos, se regulan para proteger el aparato reproductor femenino humano contra patógenos potenciales y ésta regulación está directamente efectuada por la progesterona y estradiol y, por lo tanto, influenciada por la etapa del ciclo menstrual (Hickey *et al.*, 2011). Los niveles fisiológicos de estrógeno observados durante el ciclo estral/menstrual, estimulan la respuesta inmunitaria, mientras que los altos niveles de progesterona, encontrados durante el embarazo/preñez, regulan a la baja en las respuestas inmunitarias mediadas por células (Olsen y Kovacs, 1996).

El sistema inmunológico es sexualmente dimórfico (Da Silva, 1999), por lo que el sexo del huésped altera la respuesta inmune (Merkel *et al.*, 2001; Klein y Flanagan, 2016) y conduce a diferencias que van desde la susceptibilidad a los trastornos autoinmunitarios hasta la mortalidad después de una lesión o infección (Cannon *et al.*, 1997; Kerby *et al.*, 2006).

Estudios en roedores demuestran que el inicio del dimorfismo sexual inmunitario ocurre durante el desarrollo embrionario y se mantiene después del nacimiento a través de las acciones de las hormonas gonadales, como el estrógeno y la testosterona (McCarthy y Arnold, 2011; Kovacs, 2015). El grado de dimorfismo sexual en las respuestas biológicas deriva de diferencias genéticas en el complemento cromosómico (Klein, 2012). Los genes de respuesta inmunitaria, están regulados por genes que se encuentran en los cromosomas sexuales (Ghosh y Klein, 2017) y sus acciones son inducidas por medio de efectos organizativos prenatales o de activación de las hormonas sexuales gonadales (estrógeno, progesterona y andrógenos), como también por efectos extragonadales del sexo, y mecanismos compensatorios (Klein, 2012). A lo largo de la edad reproductiva, hay diferencias en cuanto a la producción, secreción y concentraciones circulantes de estrógenos, progesterona y testosterona. La base de estas diferencias se encuentra en la función y desarrollo del eje hipotálamo-pituitario-gonadal (Morales-Montor *et al.*, 2004).

La respuesta inmunitaria dimórfica, se ha descrito tanto en la inmunidad innata como adaptativa (Markle y Fish, 2014), y la misma puede estar asociada con las diferencias entre las poblaciones de células inmunitarias entre sexos (Lee *et al.*, 1996; Hirokawa *et al.*, 2013). En general, la testosterona tiene un efecto inmunosupresor, mientras que el estrógeno tiene un efecto inmunoestimulador (Cutolo

et al., 2006; Grimaldi *et al.*, 2006). Se ha demostrado que el estrógeno potencia la inmunidad mediada por células B y suprimen algunos aspectos dependientes de células T (Girón-Gonzalez *et al.*, 2000; Bouman *et al.*, 2004)

Las hembras poseen un sistema inmune humoral y celular más fuerte (Grossman, 1989), debido a los efectos del 17β -estradiol (Whitacre *et al.*, 1999; Roberts *et al.*, 2001), a la presencia de un timo de gran desarrollo, a mayores concentraciones de anticuerpos y a una mayor capacidad para rechazar tumores (Olsen y Kovacs, 1996). Además, se caracterizan por elevaciones cíclicas de estrógenos y progesterona y bajos niveles de andrógenos. En contraste, el macho se caracteriza por bajos niveles de estrógenos y progesterona y altos niveles de andrógenos. Se deduce que una diferencia en niveles de esteroides sexuales entre un sexo y otro, puede determinar la diferencia entre la respuesta inmune de uno u otro sexo al mismo estímulo antigénico o funciones inmunológicas diferentes entre ambos sexos (Roberts *et al.*, 2001).

Las hormonas sexuales, modulan una gran cantidad de fenómenos implicados en la respuesta inmune, incluyendo la maduración y selección de timocitos, el tránsito celular, la proliferación de linfocitos, la expresión de moléculas y receptores del complejo mayor de histocompatibilidad clase II y la producción de citoquinas (Girón-Gonzalez *et al.*, 2000; Bouman *et al.*, 2004).

Los estrógenos señalizan por medio de receptores (“Receptor a Estrógenos”) que poseen diferentes localizaciones. Éstos poseen subtipos de receptores (RE), dentro de los cuales cabe mencionar: el RE α y el RE β (Yasar *et al.*, 2017), que se unen a ligandos de estrona, (E2 y E3) para mediar la expresión génica. Dichos receptores se encuentran en el tejido reproductivo y en ciertas células inmunitarias. Los linfocitos B y T, mastocitos, macrófagos, células dendríticas y células Natural Killer expresan ER α (Du *et al.*, 1984; Nilsson *et al.*, 2001), mientras que las células progenitoras hematopoyéticas expresan ER α y ER β (Phiel *et al.*, 2005; Suzuki *et al.*, 2007).

La unión del estrógeno a los RE causa la dimerización del mismo y promueven o inhiben la expresión de genes. Cada dímero del receptor a estrógenos posee diferentes afinidades, razón por la cual hay diversos efectos (Yasar *et al.*, 2017). Por medio de la “acción genómica”, los esteroides se unen a receptores presentes en el citoplasma y funcionan como factores de transcripción, regulando la respuesta inmune adaptativa. Además, los esteroides pueden actuar mediante efectos rápidos “no genómicos” (Polanczy *et al.*, 2004), a partir de la unión a RE localizados en la membrana plasmática (GPR30) o en el retículo endoplásmico (Lösel y Wehling, 2003), caracterizados por cambios en el flujo intracelular de iones y la fosforilación de proteínas, que a su vez llevan a la activación de genes (Madak-Erdogan *et al.*, 2008).

Cunha y Young (1992), demostraron que, a pesar de la ausencia de receptores de estradiol en células epiteliales uterinas de ratones neonatos normales, el tratamiento con estradiol *in vivo* estimuló la proliferación de células epiteliales uterinas. Llegaron a la hipótesis de que el estradiol podría estimular la mitogénesis epitelial uterina indirectamente, a través del estroma positivo para el receptor de estrógeno alfa (ER α). Cooke *et al.* (1997), confirmaron esta hipótesis utilizando ratones de tipo salvaje

y knockout para ER α . En estudios de recombinación en donde utilizaron células epiteliales y estromales de ratones, se demostró que la mitogénesis epitelial uterina es un efecto indirecto del estradiol, mediado por células estromales positivas para ER α . Por el contrario, Buchanan *et al.* (1999), demostraron que tanto el ER α epitelial como el estromal eran esenciales en la regulación del estradiol para la síntesis de lactoferrina en las células epiteliales uterinas.

Varios ejes hormonales que involucran la unidad pituitaria del hipotálamo están involucrados en la regulación de los linfocitos efectores. Estos incluyen el eje hipotalámico pituitario suprarrenal-tímico (HPAT), el eje hipotalámico pituitario gonadal (HPGT), el eje linfocítico mediado por factor (LFM) y el eje pineal hipotalámico pituitario (PHP). Debido a que el eje HPGT funciona a través de hormonas generadas por las gónadas, se deduce que después de la pubertad, cuando los niveles circulantes de hormonas gonadales están elevados, pueden desempeñar un papel importante en el dimorfismo inmunológico (Grossman, 1989).

Los niveles elevados de estrógeno pueden afectar varias etapas de maduración de los linfocitos dentro del microambiente del timo y/o bazo, ya que los linfocitos que experimentan una transformación blastogénica poseen receptores para los estrógenos. En el hombre, la falta de estrógenos y el aumento de andrógenos dan como resultado una menor capacidad de respuesta inmunológica. Además, debido a que las elevaciones en los esteroides sexuales ocurren en la pubertad, el dimorfismo inmunológico se hace evidente después de este evento (Gulino *et al.*, 1985).

El endometrio de los mamíferos, es un órgano muy singular, ya que debe cumplir requisitos exclusivos para lograr su objetivo final: implantación embrionaria y preñez. El mismo contiene el complemento completo de células inmunitarias responsables de la inmunidad innata y adquirida. El número y actividad de estas células, varía a lo largo de las fases del ciclo reproductivo, y está controlado por cambios en los niveles de las hormonas sexuales femeninas, como el estradiol y la progesterona (Pires y Payan-Carreira, 2015).

El sistema inmune endometrial, además de la protección inmunológica contra agentes infecciosos, debe adaptarse a varios estímulos recurrentes, incluido el contacto con células extrañas, como el espermatozoide o el embrión, que no deben ser rechazados o recuperarse durante la involución posparto. En los mamíferos, independientemente de la especie, el mantenimiento de una salud uterina adecuada es un componente clave para la eficiencia reproductiva, y la falla de la inmunidad en el equilibrio del sistema inmunitario predispone al útero a la inflamación y subsiguiente infertilidad (Pires y Payan-Carreira, 2015).

El revestimiento del aparato reproductor femenino humano, formado por células epiteliales y mucosidad, proporciona una barrera física e inmunológica que impide la transmisión de infecciones adquiridas sexualmente. El tracto reproductivo femenino superior, conformado por el endometrio, el endocérvix y las trompas de Falopio, está revestido con una sola capa de células epiteliales columnares, con uniones estrechas entre sí. La integridad de dicha barrera se altera por la presencia de estradiol, el cual reduce la integridad de la membrana *in vitro* (Fahey *et al.*, 2008; Wira *et al.*, 2010). El estroma

subyacente altera la integridad de la barrera de las células epiteliales uterinas mediante citoquinas secretadas y factores de crecimiento de las células del estroma, que también están bajo control hormonal (Grant y Wira, 2003).

El tracto reproductivo femenino inferior, compuesto por la vagina y el exocérnix, está revestido con múltiples capas de epitelio escamoso estratificado no queratinizado adherido a una membrana basal. La falta de uniones estrechas en las capas epiteliales escamosas permite el movimiento de pequeñas moléculas dentro de los espacios epiteliales entre las células (Hladik *et al.*, 2007). Las células epiteliales uterinas y vaginales no solo forman una barrera física, sino que expresan *in vitro* receptores de reconocimiento de patrones (PRR), incluidos los receptores tipo Toll (TLR) y receptores similares al dominio de oligomerización de unión a nucleótidos (NOD) que reconocen patrones moleculares asociados a patógenos conservados en microorganismos (PAMP). Tras la estimulación, los PRR median la secreción de citoquinas, quimioquinas y péptidos antimicrobianos (Wira *et al.*, 2015). En hembras caninas sanas, se observó en las diferentes capas del endometrio (epitelio superficial, epitelio glandular y estroma), la expresión diferencial de receptores tipo Toll (TLR4) en macrófagos por medio de inmunohistoquímica. Los diferentes niveles de expresión de TLR4 están relacionados con cambios fisiológicos en el microambiente del endometrio, con las poblaciones de leucocitos, citoquinas y hormonas sexuales (Chotimanukul y Sirivaidyapong, 2011).

Las citoquinas son mensajeros químicos que mantienen el ambiente homeostático normal, median la proliferación endometrial, la menstruación e implantación (Kayisli *et al.*, 2002) y son fundamentales para regular el entorno reproductivo e inmunológico del útero (Robertson *et al.*, 1992; Kover *et al.*, 1995; Godkin y Dore, 1998). También son necesarias para la señalización intercelular y para controlar eventos inmunitarios locales. El factor de crecimiento transformante beta (TGF β) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) son citoquinas reguladoras centrales de los eventos reproductivos e inmunológicos en el útero (Celada y Maki, 1992; Chegini, 1994). La secreción de dichas citoquinas por medio de las células epiteliales uterinas se produce hacia el compartimento luminal, lo que provee un gradiente para atraer células inmunitarias a la superficie epitelial (Fahey *et al.*, 2005). Estudios realizados en humanos, han demostrado que los cambios en los niveles de citoquinas en los fluidos cérvico-vaginales ocurren durante el ciclo menstrual y su secreción está bajo el control directo del estradiol y/o la progesterona o indirectamente, a través de las acciones de las hormonas sexuales sobre las células estromales subyacentes (Wira *et al.*, 2015). Dicha secreción, conduce a una rápida comunicación entre los diferentes tipos de células presentes en el aparato reproductor femenino (Hickey *et al.*, 2011).

A su vez, la protección de las células epiteliales vaginales y uterinas del contacto directo con patógenos está mediada por una capa de moco, compuesta por proteínas glicosiladas, conocidas como mucinas, que atrapan a los patógenos en un gel espeso. Dichas mucinas se expresan de acuerdo a la ubicación y al estado menstrual (Wira *et al.*, 2015).

El moco estrogénico está presente en la etapa proliferativa y aumenta en la ovulación, es de consistencia acuosa con una baja viscosidad para permitir el movimiento de los espermatozoides. Es secretado por las criptas cervicales, y en humanos, es el más estudiado, debido a que constituye una barrera que protege contra las infecciones de transmisión sexual ascendentes (Wira *et al.*, 2015).

En 2015, en la Universidad de Tras-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal se llevó a cabo un estudio en donde se investigaron a 50 hembras caninas pospuberales, sanas, no gestantes, de tamaño pequeño y mediano, con edades que oscilaron entre 1 y 10 años, con una media de 3.15 años. El objetivo de dicho estudio fue conocer acerca de las diferentes células inmunitarias que residen en el endometrio en los diferentes estadios del ciclo estral. Para ello, recolectaron muestras de tejido endometrial canino durante la ovariectomía electiva, en donde por medio de histología, determinaron en qué momento del ciclo estral se encontraban y por medio de inmunohistoquímica comprobaron el tipo de célula inmunitaria presente (Pires y Payan-Carreira, 2015).

Observaron que, en el endometrio canino normal, la proporción relativa de células inmunitarias eran de linfocitos T, linfocitos B y macrófagos. Los linfocitos T fueron el tipo de célula prevalente en el endometrio canino en anestro y proestro, coincidiendo con niveles elevados del factor de necrosis tumoral (TNF) (Payan-Carreira *et al.*, 2011) y con la secreción de progesterona (P4) sérica a niveles basales. Esto último sugiere que la P4 puede regular a la baja el número de linfocitos T durante el ciclo estral, produciendo un debilitamiento de la respuesta inmune humoral endometrial frente a patógenos, lo que explicaría el aumento de la susceptibilidad a piómetra en la hembra canina durante el diestro. Por otro lado, los linfocitos B, se distribuyeron de manera similar en todas las capas endometriales, cualquiera sea la etapa del ciclo (Pires y Payan-Carreira, 2015).

Con respecto a los macrófagos, los mismos se encontraron con mayor frecuencia en la capa superficial e intermedia del endometrio, y su número fue constante durante todas las etapas del ciclo estral. Estos son fuente de quimiocinas proinflamatorias y antiinflamatorias, y están involucrados en la reparación y remodelación de la capa funcional del endometrio, como así también en la implantación (Pires y Payan-Carreira, 2015).

Como células presentadoras de antígeno, los macrófagos y células dendríticas (DC) son importantes para generar respuestas inmunitarias adaptativas durante la infección. La exposición a patógenos y la fagocitosis inducen la maduración de macrófagos y DC y la presentación de antígenos a complejos mayores de histocompatibilidad (CMH) tipo I o tipo II. Dicha presentación de antígenos a las células T vírgenes da como resultado la expansión de la inmunidad adaptativa específica de patógenos (Sallusto y Lanzavecchia, 2002).

Las células NK, son células involucradas en diversos procesos, como defensa del huésped, implantación y embarazo y además poseen actividad citotóxica (Wira *et al.*, 2015). Su número varía en el endometrio a lo largo del ciclo menstrual, alcanzando un pico en la fase secretora. Sin embargo, en otras regiones del tracto reproductivo femenino, su cantidad no se ve afectada durante el ciclo menstrual. Las células Natural Killer uterinas producen citoquinas proinflamatorias, tales como: el factor

estimulante de colonias de granulocitos y monocitos (GM-CSF), IL-8, IL-10 e interferón (IFN), promoviendo la respuesta inflamatoria; a su vez, inducen la activación de macrófagos y la generación de células T citotóxicas (Wira *et al.*, 2005).

Como la mayoría de las funciones inmunitarias en el aparato reproductor femenino, la concentración relativa de moléculas está mediada por la fluctuación hormonal durante el ciclo estral (Wira *et al.*, 2015).

Comprender la generación de una tolerancia regulada por hormonas es importante para desarrollar vacunas que protegen el tracto reproductivo femenino. Investigaciones en ratones muestran que, el antígeno administrado en el estro, cuando los niveles de estradiol son altos, da como resultado la inducción de un fenotipo de tolerancia (Black *et al.*, 2000; Kaushic *et al.*, 2000; Gockel *et al.*, 2003).

El desarrollo de las respuestas inmunitarias adaptativas Th1, Th2, Th17 y T reguladoras pueden estar mediadas directamente por hormonas o indirectamente por un entorno de citoquinas regulado hormonalmente durante la estimulación antigénica. Varios estudios en animales han demostrado que, con la vacunación o la infección, la generación de respuestas inmunitarias adaptativas celulares y humorales están influenciada por la etapa del ciclo reproductivo (Kaushic *et al.*, 2000; Gockel *et al.*, 2003).

Los estrógenos impulsan la expansión de células T reguladoras y aumentan sus efectos supresores, sobre todo al comienzo del embarazo, mientras que el aumento de los niveles de progesterona en el segundo trimestre conduce a una disminución de dichas células (Polanczyk *et al.*, 2005). Las células T reguladoras son clave para suprimir una respuesta inmune contra antígenos propios, previniendo enfermedades autoinmunes. También controlan respuestas inmunes contra bacterias, virus, parásitos y hongos. La remoción o reducción de esta población celular puede provocar el desarrollo espontáneo de varias enfermedades autoinmunes y puede potenciar la respuesta inmune contra diversos agentes patógenos (Polanczyk *et al.*, 2004).

Los agregados linfoides están formados por células T CD8 +, que rodean un núcleo central de células B y están encapsuladas por macrófagos. Éstos se desarrollan durante la fase proliferativa (estradiol dominante) y son más grandes durante la fase secretora del ciclo menstrual (Yeaman *et al.*, 1997). La ausencia de agregados de linfocitos en mujeres posmenopáusicas proporciona evidencia adicional de que el estradiol y la progesterona regulan la formación y tamaño de los agregados (White *et al.*, 1997).

Asimismo, se ha observado que en los procesos inflamatorios dependientes de linfocitos T, los estrógenos reducen y regulan el número de éstos en el foco inflamatorio, además de disminuir la expresión del receptor de IL-2 y de marcadores de activación como CD40, CD44 y CD69. También inducen un incremento en la producción de citoquinas propias de la respuesta Th2, como la IL-5, así como la disminución de citoquinas Th1 como la IL-2 (Salem *et al.*, 2000).

Por otro lado, durante la fase lútea del ciclo estral, en donde los niveles de progesterona (P4) son altos, la respuesta inmunitaria se polariza hacia una respuesta tipo Th2, produciendo un incremento

en la producción de IL-4 e IL-5 (Faas *et al.*, 2000; Piccinni *et al.*, 2000) e inhibe la expansión clonal de células Th1 (Miyaura e Iwata, 2002). Las respuestas tipo Th2 podrían beneficiar al feto, debido a que atenúan la inmunidad materna contra el feto durante la gestación para que ésta pueda llevarse a cabo (Ragusa *et al.*, 2004).

Los experimentos que involucran gonadectomía y reemplazo hormonal demuestran que los esteroides sexuales juegan un papel central en estas diferencias de género: los andrógenos inhiben y los estrógenos mejoran la capacidad de respuesta del eje hipotálamo-hipofisario-adrenal (HPA) al estrés (Da Silva *et al.*, 1993; Handa *et al.*, 1994). El estrógeno, influye en las funciones fisiológicas a través de los receptores que se expresan en cerebro, células epiteliales intestinales, células del tejido linfoide y células inmunitarias (Klein, 2000; Klein, 2004). Tanto el estrógeno como la progesterona, en las hembras y la testosterona en los machos son las principales hormonas gonadales secretadas durante el período de activación. El efecto de la secreción hormonal durante este período no sólo se limita al sistema reproductivo, sino que se extiende a múltiples tejidos, incluidos los del sistema inmunitario (Gaumont *et al.*, 2002). En los hombres, las concentraciones plasmáticas de testosterona se mantienen estables y disminuyen con la edad. Sin embargo, en las mujeres hay fluctuación en el estrógeno y la progesterona debido a la variación en las concentraciones de la hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH) durante el ciclo menstrual (Chiu *et al.*, 1996).

La regulación inmunitaria por andrógenos como la testosterona afecta al sistema inmunitario, produciendo un aumento de la respuesta Th1 y activación de las células CD8, mientras que, por otro lado, disminuye la respuesta de las células NK y factor de necrosis tumoral alfa (TNF), y aumenta la producción de la IL-10 antiinflamatoria (Beagley y Gockel, 2003; Gleicher y Barad, 2007).

En otros estudios, se ha sugerido que la testosterona disminuye la expresión de CMH II en las células dendríticas (CD), y el estrógeno, por el contrario, aumenta su expresión (Kovats y Carreras, 2008). Las CD son importantes para la generación de respuestas inmunitarias y la diferenciación de células T, las mujeres poseen una mayor incidencia de enfermedades con sesgo sexual, pero generan una respuesta superior a las infecciones (Mangalam *et al.*, 2013).

Las hembras tienden a tener una incidencia reducida de ciertos tumores y resisten una variedad de infecciones virales y bacterianas e infestaciones parasitarias con más éxito que los machos. La citotoxicidad de ciertos virus es mucho mayor en hembras y la tasa de supervivencia es mucho mayor que la de los machos debido a su mejor capacidad inmunológica (Van Lunzen y Altfeld, 2014).

La bibliografía sugiere que existe una red compleja de protección inmunológica que reside en todo el tracto reproductivo femenino. La barrera mucosa epitelial, las células inmunes innatas y sus secreciones en el tracto reproductivo femenino indican niveles múltiples de protección que minimizan el riesgo de infección por patógenos potenciales. También se encuentra el sistema inmunitario adaptativo, que protege al aparato reproductor femenino a través de respuestas humorales y celulares sobre una base específica de patógenos. Ambos sistemas funcionan en conjunto para brindar protección. Bajo la influencia de las hormonas sexuales, los factores de crecimiento y los organismos comensales,

las células del sistema inmunológico innato y adaptativo se regulan para proteger el tracto reproductivo femenino (Hickey *et al.*, 2011). Asimismo, las hormonas sexuales tienen un impacto en las enfermedades relacionadas con el sistema inmunitario, lo que da como resultado un dimorfismo inmunitario en machos y hembras. El estrógeno y la testosterona son los principales reguladores del sistema inmunológico. El mecanismo detrás de la expresión de las hormonas sexuales de las funciones de los inmunocitos se atribuye a la regulación a través de sus interacciones con los receptores de las células inmunitarias, lo que afecta la producción, maduración, diferenciación y funcionamiento de las células y moléculas inmunitarias, especialmente las citoquinas y el desarrollo de mecanismos inmunitarios relacionados (Bhatia *et al.*, 2014).

Gonadectomía en perros

Durante décadas la gonadectomía ha sido considerada una técnica de rutina (Kutzler, 2020). La misma consiste en la extirpación quirúrgica de los testículos en los machos o de los ovarios en las hembras (Roulaux *et al.*, 2023). En caninos se presenta como una técnica con cierto grado de controversia, ya que confiere tanto beneficios como efectos adversos que dependen en gran medida de la edad de la castración, el sexo y la raza (Houlidan, 2017).

Algunos de los beneficios mencionados por los investigadores se refieren a la prevención de enfermedades del tracto reproductivo, tales como piómetra, neoplasia mamaria en gatas y perras, hiperplasia prostática benigna, hernias y adenomas perianales, prostatitis y neoplasia testicular en perros machos (Sundburg *et al.*, 2016).

A esto, Romagnoli (2008), agrega la disminución de trastornos relacionados con la preñez y el parto, como metritis, mastitis y distocia, y a las complicaciones generadas por las hormonas sexuales que propician la aparición de prolapso vaginal en perras e hipertrofia mamaria en gatas; y por último disminuyen conductas sexuales indeseables.

Además, la gonadectomía o castración quirúrgica es una técnica aplicada para el manejo reproductivo de caninos y felinos, lo que permite un control de la población de animales en situación de calle (Sánchez *et al.*, 2019) y elimina el riesgo de enfermedades reproductivas en perros domiciliados (Kutzler, 2020).

En caninos, la eliminación de las células germinales y las hormonas sexuales, puede traer aparejadas consecuencias, entre las que se mencionan: alteraciones en el metabolismo, fenotipo y comportamiento de los animales (Reichler, 2009), como así también, complicaciones quirúrgicas y anestésicas y mayor riesgo de neoplasias (linfoma, hemangiosarcoma, mastocitoma, carcinoma de células de transición y osteosarcoma) que pueden ocasionar problemas de salud a largo plazo. Estos problemas de salud pueden deberse a la activación de los receptores de la hormona luteinizante (LH) en estos tejidos no reproductivos, como resultado de la exposición sostenida a concentraciones de LH elevadas debido a la falta de retroalimentación (Brent *et al.*, 2021). Los receptores de LH están

diseminados por piel, vejiga, uretra, glándula tiroides, corteza suprarrenal, ligamentos, huesos, células endoteliales vasculares, músculo liso y linfocitos (Zwida y Kutzler, 2016).

En el mamífero intacto maduro, la LH estimula la secreción de hormonas esteroides gonadales, las cuales retroalimentan negativamente de manera directa a la adenohipófisis e indirecta a través del hipotálamo para mantener las concentraciones de LH circulantes. Sin embargo, en el mamífero gonadectomizado maduro, la ausencia de retroalimentación negativa da como resultado concentraciones circulantes de LH muy elevadas (Brent *et al.*, 2021).

En un trabajo se analizaron registros de pacientes (90.090) del Hospital Docente de Medicina Veterinaria William R. Pritchard de la Universidad de California, Davis de 1995 a 2010 para determinar el riesgo de enfermedad inmunomediada en relación con el estado de castración en los perros, concluyendo que los perros castrados tenían un riesgo significativamente mayor para dermatitis atópica (ATOP), anemia hemolítica autoinmune (AIHA), hipoadrenocorticism (ADD), hipotiroidismo (HYPO), trombocitopenia inmunomediada (ITP) y enfermedad inflamatoria intestinal (EII) que los perros intactos. En el caso de las hembras castradas presentaron mayor riesgo que los machos castrados para todos menos AIHA y ADD. Las hembras castradas, pero no los machos, tenían un riesgo significativamente mayor de lupus eritematoso (LUP) que las hembras intactas. La piómetra fue de mayor riesgo para las hembras intactas. Los resultados del estudio se presentan en la tabla 1 (Sundburg *et al.*, 2016).

Disease	Intact females	Neutered females	Intact males	Neutered males	Percent in study population
Atopic Dermatitis (ATOP)	83	745	169	641	1.82
Autoimmune Hemolytic Anemia (AIHA)	38	256	38	176	0.56
Canine Myasthenia Gravis (CMG)	11	49	6	38	0.12
Colitis (COL)	61	267	109	256	0.77
Hypoadrenocorticism (ADD)	25	147	20	113	0.34
Hypothyroidism (HYPO)	62	750	210	678	1.89
Immune-Mediated Polyarthrits (IMPA)	24	170	56	141	0.43
Immune-Mediated Thrombocytopenia (ITP)	21	262	29	151	0.51
Inflammatory Bowel Disease (IBD)	20	189	46	167	0.47
Lupus Erythematosus (LUP)	6	74	30	47	0.17
Pemphigus Complex (PEMC)	13	71	11	55	0.17
Pyometra (PYO)	176	27	NA	NA	0.44

Tabla 1. Distribución de enfermedades asociadas al sexo y estado reproductivo (Sundburg *et al.*, 2016).

El hipotiroidismo es un trastorno endócrino frecuente en donde la glándula tiroides no produce cantidades suficientes de hormona tiroidea (Scott-Moncrieff, 2007; Mooney, 2011).

La extirpación de las gónadas tiene un efecto directo sobre la función tiroidea (Dixon y Mooney, 1999). Los caninos castrados tienen un 30% más de probabilidades de desarrollar hipotiroidismo en comparación con perros sexualmente intactos (Kutzler, 2023). Además, las concentraciones de tiroxina en perros gonadectomizados son más bajas en ambos sexos en comparación con perros intactos (Krzyżewska-Modawska *et al.*, 2014).

No existe un consenso sobre el riesgo de hipotiroidismo canino acorde al género, aunque en algunos estudios se observó mayor presentación de hipotiroides en hembras castradas no así en machos castrados (Parra Martínez *et al.*, 2017).

La incidencia de hipotiroidismo en caninos es del 0,2% al 0,3%. Se ha descrito una cierta predisposición racial para el Airedale Terrier, Cocker Spaniel, Dachshund, Dóberman pinscher, Golden retriever, Setter irlandés, Schnauzer miniatura, Pomerania y Shetland Sheepdog. En relación con la edad de presentación el riesgo fue mayor entre los perros más jóvenes de las razas mencionadas (Milne y Hayes, 1981; Panciera, 1994).

En el Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Chile, sede Facultad, entre enero del 2009 y diciembre del 2012, se revisaron un total de 1.320 fichas de caninos, dentro de éstos, 9 fueron diagnosticados con hipotiroidismo, mediante la determinación de alteraciones en el perfil hormonal, presencia de signos clínicos y existencia de hemograma y perfil bioquímico, representando el 0,68% de la casuística. En dicho estudio, se excluyó a todo paciente sospechoso que no cumplía con los criterios de inclusión, por lo que el valor real de la casuística, podría ser mayor. De los nueve casos analizados y confirmados, el 33,33% (3) eran machos y el 66,67% (6) hembras. Se concluyó que, de dichos casos confirmados, la mayoría fueron hembras, de raza pura (Labrador, Schnauzer miniatura, Dálmata, Cocker Spaniel y Beagle), en edad adulta-senil y gonadectomizadas (Zúñiga Piña, 2014).

Por otro lado, en la Clínica Veterinaria de la Universidad Central del Ecuador, entre el 1 de enero del 2014 y 31 de diciembre del 2016, se revisó un total de 5562 fichas de pacientes atendidos, de los cuales 4929 fueron de pacientes caninos. Dentro de estos, 35 pacientes cumplieron con los criterios de inclusión, tales como: presencia de signos clínicos, existencia de hemograma, perfil hormonal y perfil bioquímico, y 13 fueron diagnosticados con hipotiroidismo mediante la determinación de alteraciones en el perfil hormonal (disminución de T4L), representando el 0,26% del total de pacientes. De los 13 pacientes diagnosticados con hipotiroidismo, 7 (53,84%) fueron machos y 6 (46,15%) hembras y dentro de ellos, 9 (69,23%) fueron enteros y 4 (30,76%) esterilizados. No parecería haber un aumento de hipotiroides por la castración, pero debido a los criterios de inclusión utilizados en este estudio, se puede haber subestimado la cifra, ya que existieron pacientes sospechosos de la enfermedad, pero no se llegó a comprobar con exámenes de laboratorio por lo que no entraron dentro del estudio (Guerra y Natal, 2017).

Con respecto a la prevalencia de hipoadrenocorticismo en caninos, la misma representa el 0,06% a 0,28% de la casuística (Kelch, 1996). En los Hospitales Clínicos Veterinarios de la Universidad de Chile, sedes Bilbao y Facultad, entre enero del 2004 y diciembre del 2015, se revisaron un total de 39.616 fichas clínicas, correspondientes a los pacientes atendidos. De éstas, 30.778 correspondieron a pacientes caninos, de los cuales 26 cumplieron con al menos un criterio de inclusión para ser diagnosticados con hipoadrenocorticismo, mediante al menos uno de los siguientes métodos: prueba de estimulación con ACTH y relación Sodio/Potasio, representando un 0,08% del total de perros atendidos en el período de estudio. De la totalidad de los pacientes (26 con hipoadrenocorticismo y 26 controles),

30 corresponden a hembras y 22 a machos. El 63% (19) de las hembras, se vieron afectadas por la patología, mientras que en los machos se presentó en el 32% (7) de ellos. Un 50% de los pacientes afectados por la patología se encontraban enteros al momento del diagnóstico (9 hembras y 4 machos). En este estudio, el hipoadrenocorticismismo se presentó con mayor frecuencia en hembras (19 pacientes de un total de 26) en comparación con los machos (7 pacientes de un total de 26) (Díaz Orellana, 2017), por lo que, las hembras enteras presentaron un riesgo significativamente mayor para desarrollar hipoadrenocorticismismo en comparación a los machos (Peterson *et al.*, 1996). No obstante, se contradice con lo descrito por Kelch (1996), quien señala que los perros esterilizados, sean machos o hembras, tienen un mayor riesgo de presentación de esta enfermedad; esta última afirmación, sin embargo, puede verse influenciada por la edad en que los pacientes fueron esterilizados. Por otro lado, Picazo (2003), afirma que los machos castrados tienen más probabilidad de desarrollar hipoadrenocorticismismo que los machos intactos.

Edad para realizar la gonadectomía

Existen variedad de opiniones veterinarias sobre la recomendación de la castración, y en particular sobre cuándo es el mejor momento para realizarla (Spain *et al.*, 2002; Kustritz, 2007). En algunos países, la gonadectomía se considera parte de la tenencia responsable de mascotas, y es realizada de forma rutinaria (Wongsaengchan y McKeegan, 2019). En Australia, hay evidencia de que el 85% de las perras y el 77% de los perros están gonadectomizados (McGreevy y Masters, 2008), y en los Estados Unidos, los perros que no están destinados a la reproducción se esterilizan de forma rutinaria, por lo que el 83% de los perros con tutores están castrados (Trevejo *et al.*, 2011). En varios países del norte de Europa, la extirpación quirúrgica de las gónadas se considera poco ética y sólo debe realizarse por razones médicas (Wongsaengchan y McKeegan, 2019). Por lo tanto, las tasas de gonadectomía siguen siendo bajas: en Alemania, sólo el 43,1% de los perros son gonadectomizados (Kubinyi *et al.*, 2009), y en el Reino Unido, sólo el 41,1% (O'Neill *et al.*, 2014).

Actualmente se busca reemplazar la práctica de larga data de castrar cachorros antes de los 6 meses, o en el caso de algunas hembras, antes del primer estro (Hart y Hart, 2021). En aquellos estudios donde se la recomienda como método para aumentar la eficacia del control de la población, muchos veterinarios, sugieren la gonadectomía prepuberal, es decir, castrar al animal antes del inicio de la pubertad y antes de ser dado en adopción (Salmeri *et al.*, 1991; Howe, 1997). Se sugiere que la gonadectomía prepuberal es segura y no aumenta la morbilidad ni la mortalidad en caninos, sin embargo, es de destacar que la mayoría de los estudios son a corto plazo y no se han informado estudios a largo plazo con un gran número de animales y poblaciones de control (Salmeri *et al.*, 1991; Howe *et al.*, 2001).

En otro estudio, se examinaron los efectos a largo plazo de la gonadectomía a edad temprana, registrando que las hembras caninas, menores de tres meses de edad, tenían un mayor riesgo de incontinencia urinaria. Concluyeron que la gonadectomía a edad temprana ofrecía beneficios para los

perros machos y sugirieron que, debido al riesgo de incontinencia urinaria, las perras no deberían ser esterilizadas antes de los tres meses de edad (Spain *et al.*, 2004). En otra bibliografía consultada, se informa que la castración temprana realizada a las 7 semanas de edad, no permitía el desarrollo completo de los genitales externos. Observaron inmadurez peneana y prepucial y disminución de la radiodensidad del hueso peneano. El desarrollo vulvar también suele ser insuficiente en perras gonadectomizadas a esta edad. La opción de castrar a una mascota muy joven (<3 meses) debe discutirse a fondo con el propietario. A pesar de la falta de base científica, se debe considerar la opción de retrasar la esterilización de las perras hasta después del primer celo debido a los posibles efectos beneficiosos sobre el desarrollo del sistema reproductivo (Romagnoli, 2017).

Las preocupaciones que surgen sobre la esterilización prepuberal de perros y gatos incluyen retraso en el crecimiento, obesidad, dermatitis perivulvar, vaginitis, cambios de comportamiento, incontinencia urinaria, aumento de la morbilidad/mortalidad durante la cirugía y la anestesia, y deterioro de la inmunocompetencia (Salmeri *et al.*, 1991).

En la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de California-Davis, en 2020, se realizó un estudio retrospectivo utilizando los registros hospitalarios del Hospital de Enseñanza Médica Veterinaria, el objetivo era determinar si existía un riesgo mayor a padecer ciertas enfermedades en función de diferentes factores, entre ellos el estado reproductivo de los caninos. Las patologías que se correlacionaron fueron: desgarró del ligamento cruzado craneal (LCC), displasia de cadera (HD) y displasia de codo (ED), linfoma/linfosarcoma (LSA), hemangiosarcoma (HSA), tumores de mastocitos (MCT), osteosarcoma (OSA), cáncer de mama (MC), piometra (PYO) e incontinencia urinaria (UI). Las mismas se inspeccionaron teniendo en cuenta si los perros habían sido castrados o no y a que edad (<6 meses, 6–11 meses, 12 a <24 meses o 2–8 años). Los criterios de inclusión fueron: fecha de nacimiento, edad de castración (si estaba castrada/o) y edad de diagnóstico o inicio de los signos clínicos de las enfermedades de interés. El principal hallazgo general del presente estudio es que existen diferencias entre raza y sexo con respecto al aumento de los riesgos de trastornos articulares y neoplasias asociadas con la castración a diferentes edades, por lo que se recomienda discutir a fondo las edades apropiadas para esterilizar (Hart *et al.*, 2020).

También se concluyó que uno de los mecanismos probables por el cual la castración temprana conduce a trastornos articulares, podría estar relacionado con la alteración del cierre de las placas de crecimiento de los huesos largos por la secreción de hormonas gonadales a medida que el animal se acerca a la madurez (Hart *et al.*, 2020).

La gonadectomía tiene beneficios y riesgos, que es importante que el veterinario conozca para determinar la mejor edad para esterilizar o castrar perros de ciertas razas, por lo que se debe tener cuidado al tratar de extrapolar los hallazgos de una raza a otras, o a la población general de perros, ya que los estudios de una sola raza a menudo tienen resultados contradictorios cuando se comparan con los hallazgos de estudios de otras razas o la población general de perros (Howe, 2015).

Actualmente el nuevo paradigma es que el veterinario y el propietario de la mascota utilicen la información disponible basada en datos, tales como raza, sexo, y tamaño corporal para decidir cuál es la mejor edad para la castración (Hart *et al.*, 2020).

CONCLUSIÓN

La gonadectomía, en la práctica veterinaria, es uno de los procedimientos quirúrgicos más realizados, debido a que posee muchos beneficios, pero también ciertos riesgos que debemos valorarlos a la hora de determinar el momento ideal para esterilizar o castrar caninos, ya que las gónadas caninas no son simplemente órganos reproductivos, sino que son fundamentales para la salud endócrina, musculoesquelética, conductual y antineoplásica.

Es de destacar la existencia de un dimorfismo inmunológico, siendo el estrógeno y la testosterona las principales hormonas reguladores del mismo. Esto podría explicar la susceptibilidad a ciertas patologías en uno u otro sexo.

Por otro lado, la incidencia de algunas patologías endócrinas posteriores a la gonadectomía, tales como hipotiroidismo o hipoadrenocorticismo se han observado y descrito en algunas razas, pero existe una información limitada acerca de las mismas, por lo que es necesario investigar en profundidad en estas áreas para conocer más acerca de los posibles efectos adversos a largo plazo en nuestros pacientes.

Por último, con respecto a la edad a la cual se recomienda realizar la gonadectomía, existe una variedad de opiniones sobre cuándo es el momento óptimo. Según lo abordado en esta monografía, y coincidiendo con otros autores, la recomendación es individualizar cada caso y analizarlo en particular, teniendo en cuenta la influencia de las hormonas sexuales, la raza, el tamaño corporal y el sexo.

BIBLIOGRAFÍA

Abreu, D.K.; Rodrigues, E.A.; Monteiro, J.M.; Francioli, A.L.; Costola-Souza, C.; Roballo, K. & Miglino, M.A. (2011). Estudo microscópico e macroscópico, com enfoque radiográfico e de alizarina, no desenvolvimento embrionário e fetal de gatos domésticos (*Felis catus*) em diferentes idades gestacionais. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 31, 57-66.

Ahmed, S.A.; Penhale, W.J.; Talal, N. (1985). Sex hormones, immune responses, and autoimmune diseases. Mechanisms of sex hormone action. *The American journal of pathology*, 121(3), 531–551.

Alitalo, K.; & Carmeliet, P. (2002). Molecular mechanisms of lymphangiogenesis in health and disease. *Cancer cell*, 1(3), 219-227.

Beagley, K.W. y Gockel, C.M. (2003). Regulación de la inmunidad innata y adaptativa por las hormonas sexuales femeninas estradiol y progesterona. *FEMS Inmunología y Microbiología Médica*, 38 (1), 13-22.

Beijerink, N.J.; Buijtel, J.; Okkens, A.C.; Kooistra, H.S.; & Dieleman, S.J. (2007). Basal and GnRH-induced secretion of FSH and LH in anestrus versus ovariectomized bitches. *Theriogenology*, 67(5), 1039-1045.

Berczi, I.; Chow, D.A.; Baral, E.; & Nagy, E. (1998). Neuroimmunoregulation and cancer. *International journal of oncology*, 13(5), 1049-1109.

Besedovsky, H.O.; & del Rey, A. (1996). Immune-neuro-endocrine interactions: facts and hypotheses. *Endocrine reviews*, 17(1), 64-102.

Bhatia, A.; Sekhon, H.K.; & Kaur, G. (2014). Sex hormones and immune dimorphism. *The Scientific World Journal*, 2014.

Black, C.A.; Rohan, L.C.; Cost, M.; Watkins, S.C.; Draviam, R.; Alber, S.; & Edwards, R.P. (2000). Vaginal mucosa serves as an inductive site for tolerance. *The Journal of Immunology*, 165(9), 5077-5083.

Blander, J.M. (2007). Signalling and phagocytosis in the orchestration of host defence. *Cellular microbiology*, 9(2), 290-299.

Bouman, A.; Schipper, M.; Heineman, M.J.; & Faas, M.M. (2004). Gender difference in the non-specific and specific immune response in humans. *American Journal of Reproductive Immunology*, 52(1), 19-26.

Bouman, A., Heineman, M. J., & Faas, M.M. (2005). Sex hormones and the immune response in humans. *Human reproduction update*, 11(4), 411-423.

Brent, L.; Lissner, E.A.; & Kutzler, M.A. (2021). Restoration of reproductive hormone concentrations in a male neutered dog improves health: a case study. *Topics in Companion Animal Medicine*, 45, 100565.

Buchanan, D.L.; Setiawan, T.; Lubahn, D.B.; Taylor, J.A.; Kurita, T.; Cunha, G.R.; & Cooke, P.S. (1999). Tissue compartment-specific estrogen receptor- α participation in the mouse uterine epithelial secretory response. *Endocrinology*, 140(1), 484-491.

Calippe, B.; Douin-Echinard, V.; Laffargue, M.; Laurell, H.; Rana-Poussine, V.; Pipy, B.; ... & Gourdy, P. (2008). Chronic estradiol administration in vivo promotes the proinflammatory response of macrophages to TLR4 activation: involvement of the phosphatidylinositol 3-kinase pathway. *The Journal of Immunology*, 180(12), 7980-7988.

Cannon, J.G.; y Pierre, B.A.S. (1997). Gender differences in host defense mechanisms. *Journal of Psychiatric Research*, 31(1), 99-113.

Celada, A.; & Maki, R.A. (1992). Transforming growth factor-beta enhances the M-CSF and GM-CSF-stimulated proliferation of macrophages. *The Journal of Immunology*, 148(4), 1102-1105.

Chegini, N.; Zhao, Y.; Williams, R.S.; & Flanders, K.C. (1994). Human uterine tissue throughout the menstrual cycle expresses transforming growth factor-beta 1 (TGF beta 1), TGF beta 2, TGF beta 3, and TGF beta type II receptor messenger ribonucleic acid and protein and contains [125I] TGF beta 1-binding sites. *Endocrinology*, 135(1), 439-449.

Chiu, L.; Nishimura, M.; Ishii, Y.; Nieda, M.; Maeshima, M.; Takedani, Y.; ... & Juji, T. (1996). Enhancement of the expression of progesterone receptor on progesterone-treated lymphocytes after immunotherapy in unexplained recurrent spontaneous abortion. *American Journal of Reproductive Immunology*, 35(6), 552-557.

Chotimanukul, S.; & Sirivaidyapong, S. (2011). Differential expression of Toll-like receptor 4 (TLR4) in healthy and infected canine endometrium. *Theriogenology*, 76(6), 1152-1161.

Concannon, P.W. (2009). Control endocrinológico de la función ovárica canina normal. *Reproducción en animales domésticos*, 44, 3-15.

Concannon, P.W. (2011). Ciclos reproductivos de la perra doméstica. *Ciencia de la reproducción animal*, 124 (3-4), 200-210.

Cooke, P.S.; Buchanan, D.L.; Young, P.; Setiawan, T.; Brody, J.; Korach, K.S.; & Cunha, G.R. (1997). Stromal estrogen receptors mediate mitogenic effects of estradiol on uterine epithelium. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(12), 6535-6540.

Cunha, G.R.; & Young, P. (1992). Role of stroma in oestrogen-induced epithelial proliferation. *Epithelial Cell Biology*, 1(1), 18-31.

Cutolo, M.; Capellino, S.; Sulli, A.; Seriola, B.; Secchi, M.E.; Villaggio, B.; & Straub, R.H. (2006). Estrogenes and autoimmune diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1089(1), 538-547.

Da Silva, J.; Peers, S.H.; Perretti, M.; & Willoughby, D.A. (1993). Sex steroids affect glucocorticoid response to chronic inflammation and to interleukin-1. *Journal of endocrinology*, 136(3), 389-397.

Da Silva, J. (1999). Sex hormones and glucocorticoids: interactions with the immune system. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 876(1), 102-118.

Day, M.J. (2007). Immune system development in the dog and cat. *Journal of comparative pathology*, 137, S10-S15.

Díaz Orellana, D.C. (2017). Descripción de hipoadrenocorticismo en perros y su relación con sexo, edad y raza en los

Diesel, G.; Brodbelt, D.; & Laurence, C. (2010). Survey of veterinary practice policies and opinions on neutering dogs. *Veterinary Record*, 166(15), 455-458.

Dixon, R.M.; & Mooney, C.T. (1999). Canine serum thyroglobulin autoantibodies in health, hypothyroidism and non-thyroidal illness. *Research in Veterinary Science*, 66(3), 243-246.

Du, J.T.; Vennos, E.; Ramey, E.; & Ramwell, P.W. (1984). Sex differences in arachidonate cyclo-oxygenase products in elicited rat peritoneal macrophages. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism*, 794(2), 256-260.

Espinoza, J.L.; Aguilar, M.E.H.; Abreu, G.E.A.; Durán, F.R.; Denes, J.M.; Ávila, G.A.C.; ... & Cid, A.H.S. (2013). El papel de los estrógenos y sus receptores en la prevención y promoción de enfermedades proliferativas de la glándula prostática. *Eneurobiología*, 4(8).

Faas, M.; Bouman, A.; Moesa, H.; Heineman, M.J.; De Leij, L.; Schuiling, G. (2000). The immune response during the luteal phase of the ovarian cycle: a Th2-type response? *Fertility and sterility*, 74(5), 1008-1013.

Fahey, J.V.; Schaefer, T.M.; Channon, J.Y., & Wira, C.R. (2005). Secretion of cytokines and chemokines by polarized human epithelial cells from the female reproductive tract. *Human Reproduction*, 20(6), 1439-1446.

Fahey, J.V.; Wright, J.A.; Shen, L.; Smith, J.M.; Ghosh, M.; Rossoll, R.M., & Wira, C.R. (2008). Estradiol selectively regulates innate immune function by polarized human uterine epithelial cells in culture. *Mucosal immunology*, 1(4), 317-325.

Faldyna, M.; Sinkora, J.; Knotigova, P.; Leva, L.; & Toman, M. (2005). Lymphatic organ development in dogs: major lymphocyte subsets and activity. *Veterinary immunology and immunopathology*, 104(3-4), 239-247

Felsburg, P.J. (2002). Overview of immune system development in the dog: comparison with humans. *Human & experimental toxicology*, 21(9-10), 487-492.

Gaillard, R.C. & Spinedi, E. (1998). Interacciones sexo-estrés-esteroides y el sistema inmunológico: evidencia de un dimorfismo sexual neuroendocrino-inmunológico. *Endocrinología de animales domésticos*, 15 (5), 345-352.

Gaumond, I.; Arsenault, P.; & Marchand, S. (2002). The role of sex hormones on formalin-induced nociceptive responses. *Brain research*, 958(1), 139-145.

Ghosh, S.; & Klein, R.S. (2017). Sex drives dimorphic immune responses to viral infections. *The journal of immunology*, 198(5), 1782-1790.

Giron-Gonzalez, J.A.; Moral, F.J.; Elvira, J.; Garcia-Gil, D.; Guerrero, F.; Gavilan, I.; & Escobar, L. (2000). Consistent production of a higher TH1: TH2 cytokine ratio by stimulated T cells in men compared with women. *European journal of endocrinology*, 143(1), 31-36.

Gleicher, N.; & Barad, D.H. (2007). Gender as risk factor for autoimmune diseases. *Journal of autoimmunity*, 28(1), 1-6.

Gockel, C.M., Bao, S., Holland, M.K., & Beagley, K.W. (2003). Influence of the murine oestrous cycle on the induction of mucosal immunity. *American journal of reproductive immunology*, 50(5), 369-379.

Godkin, J.D. & Dore, J.J. (1998). Transforming growth factor beta and the endometrium. *Rev Reprod*, 3(1), 1-6.

Grant, K.S.; & Wira, C.R. (2003). Effect of mouse uterine stromal cells on epithelial cell transepithelial resistance (TER) and TNF α and TGF β release in culture. *Biology of reproduction*, 69(3), 1091-1098.

Grimaldi, C.M.; Jeganathan, V.; & Diamond, B. (2006). Hormonal regulation of B cell development: 17 β -estradiol impairs negative selection of high-affinity DNA-reactive B cells at more than one developmental checkpoint. *The Journal of Immunology*, 176(5), 2703-2710.

Grossman, C.J. (1985). Interacciones entre los esteroides gonadales y el sistema inmunológico. *Ciencia*, 227 (4684), 257-261.

Grossman, C.J. (1989). Possible underlying mechanisms of sexual dimorphism in the immune response, fact and hypothesis. *Journal of steroid biochemistry*, 34(1-6), 241-251.

Guerra, Y.; Natal, K. (2017). *Caracterización clínico-patológica de pacientes caninos diagnosticados con hipotiroidismo en la Clínica Veterinaria de la Universidad Central del Ecuador* (Bachelor's thesis, Quito: UCE).

Gulino A.; Screpanti I.; Torrisi M.R.; and Frati, L. (1985). Estrogen receptors and estrogen sensitivity of fetal thymocytes are restricted to blast lymphoid cells, *Endocrinology* 117 47-54.

Haley, P.J. (2003). Species differences in the structure and function of the immune system. *Toxicology*, 188(1), 49-71.

Handa, R.J.; Nunley, K.M.; Lorens, S.A.; Louie, J.P.; McGivern, R.F.; & Bollnow, M.R. (1994). Androgen regulation of adrenocorticotropin and corticosterone secretion in the male rat following novelty and foot shock stressors. *Physiology & behavior*, 55(1), 117-124.

Hart, B.L.; Hart, L.A.; Thigpen, A.P.; & Willits, N.H. (2020). Assisting decision-making on age of neutering for 35 breeds of dogs: associated joint disorders, cancers, and urinary incontinence. *Frontiers in Veterinary Science*, 388.

Hart, L.A., & Hart, B.L. (2021). An ancient practice but a new paradigm: Personal choice for the age to spay or neuter a dog. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 603257.

Hickey, D.K.; Patel, M.V.; Fahey, J.V. & Wira, C.R. (2011). Inmunidad innata y adaptativa en las superficies mucosas del tracto reproductivo femenino: estratificación e integración de la protección

inmunológica contra la transmisión de infecciones de transmisión sexual. *Revista de Inmunología Reproductiva*, 88(2), 185–194.

Hirokawa, K.; Utsuyama, M.; Hayashi, Y.; Kitagawa, M.; Makinodan, T. & Fulop, T. (2013). Envejecimiento más lento del sistema inmunológico en mujeres versus hombres en la población japonesa. *Inmunidad y envejecimiento*, 10 (1), 1-9.

Hladik, F.; Sakchalathorn, P.; Ballweber, L.; Lentz, G.; Fialkow, M.; Eschenbach, D.; & McElrath, M.J. (2007). Eventos iniciales en el establecimiento de la entrada vaginal y la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1. *Inmunidad*, 26 (2), 257-270.

Holsapple, M.P.; West, L.J.; & Landreth, K.S. (2003). Species comparison of anatomical and functional immune system development. *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*, 68(4), 321-334.

Houlihan, K.E. (2017). A literature review on the welfare implications of gonadectomy of dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 250(10), 1155-1166.

Howe, L.M. (1997). Short-term results and complications of prepubertal gonadectomy in cats and dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 211(1), 57-62.

Howe, L.M.; Slater, M.R.; Boothe, H.W.; Hobson, H.P.; Holcom, J.L., & Spann, A.C. (2001). Long-term outcome of gonadectomy performed at an early age or traditional age in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 218(2), 217-221.

Howe, L.M. (2015). Current perspectives on the optimal age to spay/castrate dogs and cats. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, 171-180.

Hyttel, P; Sinowatz, F; Vejlsted, M. (2010). Domestic Animal Embryology. 11th ed. Philadelphia: Saunders, Elsevier, 208-215.

Kaushic, C.; Zhou, F.; Murdin, A.D.; & Wira, C.R. (2000). Effects of estradiol and progesterone on susceptibility and early immune responses to Chlamydia trachomatis infection in the female reproductive tract. *Infection and immunity*, 68(7), 4207-4216.

Kayisli, U.A., Mahutte, N.G. y Arici, A. (2002). Quimiocinas uterinas en fisiología y patología reproductiva. *Diario americano de inmunología reproductiva*, 47 (4), 213-221.

Kelch, W.J. (1996). *Canine Hypoadrenocorticism (Canine Addison's Disease): History, Contemporary Diagnosis by Practicing Veterinarians, and Epidemiology*. The University of Tennessee

Kerby, J.D.; McGwin Jr, G.; George, R.L.; Cross, J.A.; Chaudry, I.H.; & Rue, L.W. (2006). Sex differences in mortality after burn injury: results of analysis of the National Burn Repository of the American Burn Association. *Journal of burn care & research*, 27(4), 452-456.

Klein, S.L. (2000). The effects of hormones on sex differences in infection: from genes to behavior. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 24(6), 627-638.

Klein, S.L. (2004). Hormonal and immunological mechanisms mediating sex differences in parasite infection. *Parasite immunology*, 26(6-7), 247-264.

Klein, S.L. (2012). Sex influences immune responses to viruses, and efficacy of prophylaxis and treatments for viral diseases. *Bioessays*, 34(12), 1050-1059.

Klein, S.L., & Flanagan, K.L. (2016). Sex differences in immune responses. *Nature Reviews Immunology*, 16(10), 626-638.

Kovats, S.; & Carreras, E. (2008). Regulation of dendritic cell differentiation and function by estrogen receptor ligands. *Cellular immunology*, 252(1-2), 81-90.

Kovats, S. (2015). Estrogen receptors regulate innate immune cells and signaling pathways. *Cellular immunology*, 294(2), 63-69.

Kover, K.; Liang, L.; Andrews, G.K.; & Dey, S.K. (1995). Differential expression and regulation of cytokine genes in the mouse uterus. *Endocrinology*, 136(4), 1666-1673.

Krzyżewska-Młodawska, A.; Max, A.; & Bartyzel, B.J. (2014). Influence of gonadectomy on serum FT4 concentrations in male and female dogs. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, 17(1).

Kubinyi, E.; Turcsán, B.; & Miklósi, Á. (2009). Dog and owner demographic characteristics and dog personality trait associations. *Behavioural processes*, 81(3), 392-401.

Kustritz, M.V. (2007). Determining the optimal age for gonadectomy of dogs and cats, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 231(11), 1665-1675.

Kustritz, M.V. (2012). Efectos de la esterilización quirúrgica en la salud canina y felina y en la sociedad. *Reproducción en animales domésticos*, 47, 214-222.

Kutzler, M.A. (2020). Possible relationship between long-term adverse health effects of gonad-removing surgical sterilization and luteinizing hormone in dogs. *Animals*, 10(4), 599.

Kutzler, M.A. (2023). Understanding the effects of sustained supraphysiologic concentrations of luteinizing hormone in gonadectomized dogs: What we know and what we still need to learn. *Theriogenology*, 196, 270-274.

Laan, M.; Haljasorg, U.; Kisand, K.; Salumets, A.; & Peterson, P. (2016). Pregnancy-induced thymic involution is associated with suppression of chemokines essential for T-lymphoid progenitor homing. *European Journal of Immunology*, 46(8), 2008-2017.

Lee, B.W.; Yap, H.K.; Chew, F.T.; Quah, T.C.; Prabhakaran, K.; Chan, G.S.; ... & Seah, C.C. (1996). Age-and sex-related changes in lymphocyte subpopulations of healthy Asian subjects: From birth to adulthood. *Cytometry: The Journal of the International Society for Analytical Cytology*, 26(1), 8-15.

Löfstedt, R.M. y Van Leeuwen, J.A. (2002). Evaluación de una prueba de hormona luteinizante disponible comercialmente por su capacidad para distinguir entre perras ovariectomizadas y sexualmente intactas. *Diario de la Asociación Médica Veterinaria Americana*, 220 (9), 1331-1335.

Lösel, R. y Wehling, M. (2003). Acciones no genómicas de las hormonas esteroides. *Reseñas de la naturaleza Biología celular molecular*, 4 (1), 46-55.

- Madak-Erdogan, Z.; Kieser, K.J.; Kim, S.H.; Komm, B.; Katzenellenbogen, J.A.; & Katzenellenbogen, B.S. (2008). Nuclear and extranuclear pathway inputs in the regulation of global gene expression by estrogen receptors. *Molecular endocrinology*, 22(9), 2116-2127.
- Mangalam, A.K.; Taneja, V.; & David, C.S. (2013). HLA class II molecules influence susceptibility versus protection in inflammatory diseases by determining the cytokine profile. *The Journal of Immunology*, 190(2), 513-519.
- Markle, J.G.; & Fish, E.N. (2014). Sex matters in immunity. *Trends in immunology*, 35(3), 97-104.
- McCarthy, M.M.; & Arnold, A.P. (2011). Reframing sexual differentiation of the brain. *Nature neuroscience*, 14(6), 677-683.
- McGreevy, P.D.; & Masters, A.M. (2008). Risk factors for separation-related distress and feed-related aggression in dogs: additional findings from a survey of Australian dog owners. *Applied Animal Behaviour Science*, 109(2-4), 320-328.
- Meethal, S. V., & Atwood, C. S. (2005). The role of hypothalamic-pituitary-gonadal hormones in the normal structure and functioning of the brain. *Cell Mol Life Sci*, 62(3), 257-270.
- Merkel, S.M.; Alexander, S.; Zufall, E.; Oliver, J.D.; & Huet-Hudson, Y.M. (2001). Essential role for estrogen in protection against *Vibrio vulnificus*-induced endotoxic shock. *Infection and immunity*, 69(10), 6119-6122.
- Mesquita, J.D.; Araújo, J.A.P.; Catelan, T.T.T.; Souza, A.W.S.D.; Cruvinel, W.D.M.; Andrade, L.E.C.; & Silva, N.P.D. (2010). Sistema imunitário-parte II: fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B. *Revista Brasileira de Reumatologia*, 50, 552-580.
- Milne, K.L.; & Hayes-Jr, H.M. (1981). Epidemiologic features of canine hypothyroidism. *The Cornell Veterinarian*, 71(1), 3-14.
- Miyaura, H.; Iwata, M. (2002). Direct and indirect inhibition of Th1 development by progesterone and glucocorticoids. *The Journal of Immunology*, 168(3), 1087-1094.
- Mooney, C.T. (2011). Canine hypothyroidism: a review of aetiology and diagnosis. *New Zealand Veterinary Journal*, 59(3), 105-114.
- Morales-Montor, J.; Baig, S.; Hallal-Calleros, C.; & Damian, R.T. (2002). *Taenia crassiceps*: androgen reconstitution of the host leads to protection during cysticercosis. *Experimental parasitology*, 100(4), 209-216.
- Morales-Montor, J.; Chavarria, A.; De Leon, M.A.; Del Castillo, L.I.; Escobedo, E.G.; Sanchez, E.N.; ... & Larralde, C. (2004). Género del huésped en infecciones parasitarias de mamíferos: una evaluación del paradigma de la supremacía del huésped femenino. *Diario de Parasitología*, 90 (3), 531-546.
- Murakami, M.; Hosoi, Y.; Negishi, T.; Kamiya, Y.; Miyashita, K.; Yamada, M.; Mori, M. (1996). Hiperplasia tímica en pacientes con enfermedad de Graves. Identificación de receptores de tirotrópina en timo humano. *El diario de investigación clínica*, 98 (10), 2228-2234.

- Nilsson, S.; Makela, S.; Treuter, E.; Tujague, M.; Thomsen, J.; Andersson, G.; & Gustafsson, J. Å. (2001). Mechanisms of estrogen action. *Physiological reviews*, 81(4), 1535-1565.
- O'Neill, D.G.; Church, D.B.; McGreevy, P.D.; Thomson, P.C.; & Brodbelt, D.C. (2014). Prevalence of disorders recorded in dogs attending primary-care veterinary practices in England. *PLoS one*, 9(3), e90501.
- Olsen, N.J.; & Kovacs, W.J. (1996). Gonadal steroids and immunity. *Endocrine reviews*, 17(4), 369-384.
- Pancieria, D.L. (1994). Hypothyroidism in dogs: 66 cases (1987-1992). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 204(5), 761-767.
- Pantaleo, M.; Piccinno, M.; Roncetti, M.; Mutinati, M.; Rizzo, A.; & Sciorsci, R.L. (2013). Evaluation of serum concentrations of interleukin (IL)-4, IL-10, and IL-12 during pregnancy in bitches. *Theriogenology*, 79(6), 970-973.
- Parra Martínez, C.; Loste Montoya, A.; & Marca Andrés, M. (2017) Hipotiroidismo canino. Estudio de las alteraciones hematológicas.
- Pastoret, P.P.; Griebel, P.; Bazin, H.; & Govaerts, A. (Eds.). (1998). *Handbook of vertebrate immunology*. Academic Press.
- Payan-Carreira, R.; Pires, M.A.; Ström Holst, B.; & Rodriguez-Martinez, H. (2011). Tumour necrosis factor in the canine endometrium: an immunohistochemical study. *Reproduction in domestic animals*, 46(3), 410-418.
- Pereira, M.; Valério-Bolas, A.; Saraiva-Marques, C.; Alexandre-Pires, G.; Pereira da Fonseca, I.; & Santos-Gomes, G. (2019). Development of dog immune system: from in uterus to elderly. *Veterinary Sciences*, 6(4), 83.
- Peterson, M.E.; Kintzer, P.P.; & Kass, P.H. (1996). Pretreatment clinical and laboratory findings in dogs with hypoadrenocorticism: 225 cases (1979-1993). *JOURNAL-AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION*, 208, 85-91.
- Phiel, K.L.; Henderson, R.A.; Adelman, S.J.; & Elloso, M.M. (2005). Differential estrogen receptor gene expression in human peripheral blood mononuclear cell populations. *Immunology letters*, 97(1), 107-113.
- Picazo, R. (2003). Hipoadrenocorticism: enfermedad de Addison. *Clínica veterinaria de pequeños animales*, 23(3), 0155-162.
- Piccinni, M.P.; Maggi, E.; Romagnani, S. (2000). Role of hormone-controlled T-cell cytokines in the maintenance of pregnancy. *Biochemical Society Transactions*, 28(2), 212-215.
- Pieri, N.C.; Souza, A.F.; Casals, J.B.; Roballo, K.; Ambrósio, C.E.; Martins, D.S. (2015). Comparative Development of Embryonic Age by Organogenesis in Domestic Dogs and Cats. *Reprod Domest Anim*, 50:625-631.
- Pires, M.A.; & Payan-Carreira, R. (2015). Resident macrophages and lymphocytes in the canine endometrium. *Reproduction in Domestic Animals*, 50(5), 740-749.

Polanczyk, M.J.; Carson, B.D.; Subramanian, S.; Afentoulis, M.; Vandembark, A.A.; Ziegler, S.F.; y Offner, H. (2004). Vanguardia: el estrógeno impulsa la expansión del compartimento de células T reguladoras CD4⁺ CD25⁺. *The Journal of Immunology*, 173 (4), 2227-2230.

Polanczyk, M.J.; Hopke, C.; Huan, J.; Vandembark, A.A.; & Offner, H. (2005). Enhanced FoxP3 expression and Treg cell function in pregnant and estrogen-treated mice. *Journal of neuroimmunology*, 170(1-2), 85-92.

Prümmer, O.; Raghavachar, A.; Werner, C.; Calvo, W.; Carbonell, F.; Steinbach, I.; & Fliedner, T.M. (1985). Fetal liver transplantation in the dog. *Transplantation* 1985; 39:349±55.

Ragusa, A.; De Carolis, C.; Dal Lago, A.; Miriello, D.; Ruggiero, G.; Brucato, A.; Pisoni, M.P.; Muscara, M.; Merati, R.; Maccario, L.; Nobili, M. (2004). Progesterone supplement in pregnancy: an immunologic therapy?. *Lupus*, 13(9), 639-642.

Reece, W.O.; Erickson, H.H.; Goff, J.P.; & Uemura, E.E. (Eds.). (2015). *Dukes' physiology of domestic animals*. John Wiley & Sons.

Reichler, I.M. (2009). Gonadectomy in cats and dogs: a review of risks and benefits. *Reproduction in Domestic Animals*, 44, 29-35.

Roballo, K.; Souza, A.F.; Lara, V.M.; Pinheiro, A.O.; Gomes, I.; Karam, R.G.; ... & Ambrósio, C.E. (2019). Canine fetus immune system at late development. *Animal Reproduction*, 16, 328-331.

Roberts, C.W.; Walker, W.; & Alexander, J. (2001). Sex-associated hormones and immunity to protozoan parasites. *Clinical microbiology reviews*, 14(3), 476-488.

Robertson, S.A.; Mayrhofer, G.; & Seamark, R.F. (1992). Uterine epithelial cells synthesize granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and interleukin-6 in pregnant and nonpregnant mice. *Biology of reproduction*, 46(6), 1069-1079.

Romagnoli, S. (2008). Surgical gonadectomy in the bitch and queen: should it be done and at what age. In *Southern European Veterinary Conference and Congreso Nacional AVEPA*.

Romagnoli, S. (2017). Early-age neutering in dogs and cats: advantages and disadvantages. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 41(1), 130-132.

Roulaux, P.E.; van Herwijnen, I.R.; & Beerda, B. (2023). Desexing dogs as a means of decreasing the generally regarded sexually dimorphic behaviors of urine marking, mounting, and roaming. *Journal of Veterinary Behavior*, 62, 47-52.

Salem, M.L.; Hossain, M.S. y Nomoto, K. (2000). Mediación del efecto inmunomodulador del β -estradiol sobre las respuestas inflamatorias mediante la inhibición del reclutamiento y activación de células inflamatorias y su expresión génica de TNF- α e IFN- γ . *Archivos internacionales de alergia e inmunología*, 121 (3), 235-245.

Sallusto, F.; & Lanzavecchia, A. (2002). The instructive role of dendritic cells on T-cell responses. *Arthritis Research & Therapy*, 4(3), 1-6.

Salmeri, K.R.; Bloomberg, M.S.; Scruggs, S.L.; & Shille, V. (1991). Gonadectomy in immature dogs: effects on skeletal, physical, and behavioral development. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 198(7), 1193-1203.

Sánchez, E.S.; Hernández, J.M.; & Calle, M.M.G. (2019). *Manual para la tenencia responsable de mascotas*. Fondo Editorial Biogénesis, 55-55.

Schäfer-Somi, S.; Beceriklisoy, H.B.; Budik, S.; Kanca, H.; Aksoy, O.A.; Polat, B. ... & Aslan, S. (2008). Expression of genes in the canine pre-implantation uterus and embryo: implications for an active role of the embryo before and during invasion. *Reproduction in domestic animals*, 43(6), 656-663.

Schäfer-Somi, S.; Sabitzer, S.; Klein, D.; Tomaszewski, C.; Kanca, H.A.; Beceriklisoy, H.B.; ... & Aslan, S. (2012). Is apoptosis a regulatory mechanism during early canine pregnancy? *Reproduction in Domestic Animals*, 47, 169-172.

Schoemaker, M.H.; Ros, J.E.; Homan, M.; Trautwein, C.; Liston, P.; Poelstra, K.; ... y Moshage, H. (2002). Regulación de citocinas de genes pro y antiapoptóticos en hepatocitos de rata: el inhibidor de la proteína de apoptosis 2 (cIAP2) regulado por NF- κ B previene la apoptosis. *Diario de hepatología*, 36 (6), 742-750.

Schumacher, A.; Costa, S.D.; & Zenclussen, A.C. (2014). Endocrine factors modulating immune responses in pregnancy. *Frontiers in immunology*, 5, 196.

Scott-Moncrieff, J.C. (2007). Clinical signs and concurrent diseases of hypothyroidism in dogs and cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 37(4), 709-722.

Spain, C.V.; Scarlett, J.M.; & Cully, S.M. (2002). When to neuter dogs and cats: a survey of New York state veterinarians' practices and beliefs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 38(5), 482-488.

Spain, C.V.; Scarlett, J.M.; & Houpt, K.A. (2004). Long-term risks and benefits of early-age gonadectomy in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 224(3), 380-387.

Stornelli, M.A.; & Sota, R.L. (2016). Manual de reproducción de animales de producción y compañía. *Series: Libros de Cátedra*.

Sundburg, C.R.; Belanger, J.M.; Bannasch, D.L.; Famula, T.R.; & Oberbauer, A.M. (2016). Efectos de la gonadectomía sobre el riesgo de trastornos inmunológicos en el perro: un estudio retrospectivo. *Investigación veterinaria BMC*, 12 (1), 1-10.

Suzuki, T.; Shimizu, T.; Yu, H.P.; Hsieh, Y.C.; Choudhry, M.A.; & Chaudry, I.H. (2007). Salutary effects of 17 β -estradiol on T-cell signaling and cytokine production after trauma-hemorrhage are mediated primarily via estrogen receptor- α . *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 292(6), C2103-C2111.

Tizard, I.R. (2017). *Veterinary Immunology-E-Book*. Elsevier Health Sciences.

Trejejo, R.; Yang, M.; & Lund, E M. (2011). Epidemiology of surgical castration of dogs and cats in the United States. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 238(7), 898-904.

Utsuyama, M.; Hirokawa, K.; Mancini, C.; Brunelli, R.; Leter, G.; & Doria, G. (1995). Differential effects of gonadectomy on thymic stromal cells in promoting T cell differentiation in mice. *Mechanisms of ageing and development*, 81(2-3), 107-117.

Van Lunzen, J.; & Altfeld, M. (2014). Sex differences in infectious diseases—common but neglected. *The Journal of infectious diseases*, 209(suppl_3), S79-S80.

Whitacre, C.C., Reingold, S.C., & O’Looney, P.A. (1999). A gender gap in autoimmunity. *Science*, 283(5406), 1277-1277.

White, H.D.; Crassi, K.M.; Givan, A.L.; Stern, J.E.; Gonzalez, J.L.; Memoli, V.A.; & Wira, C.R. (1997). CD3+ CD8+ CTL activity within the human female reproductive tract: influence of stage of the menstrual cycle and menopause. *The Journal of Immunology*, 158(6), 3017-3027.

Wira, C.R.; & Sandoe, C.P. (1980). Hormonal regulation of immunoglobulins: influence of estradiol on immunoglobulins A and G in the rat uterus. *Endocrinology*, 106(3), 1020-1026.

Wira, C.R.; Fahey, J.V.; Sentman, C.L.; Pioli, P.A.; & Shen, L. (2005). Innate and adaptive immunity in female genital tract: cellular responses and interactions. *Immunological reviews*, 206(1), 306-335.

Wira, C.R.; Fahey, J.V.; Ghosh, M.; Patel, M.V.; Hickey, D.K.; & Ochiel, D.O. (2010). Sex hormone regulation of innate immunity in the female reproductive tract: the role of epithelial cells in balancing reproductive potential with protection against sexually transmitted pathogens. *American journal of reproductive immunology*, 63(6), 544-565.

Wira, C.R.; Rodriguez-Garcia, M.; & Patel, M.V. (2015). The role of sex hormones in immune protection of the female reproductive tract. *Nature Reviews Immunology*, 15(4), 217-230.

Wongsangchan, C.; & McKeegan, D.E. (2019). The views of the UK public towards routine neutering of dogs and cats. *Animals*, 9(4), 138.

Yamaguchi, T.; Watanuki, H.; & Sakai, M. (2001). Effects of estradiol, progesterone and testosterone on the function of carp, *Cyprinus carpio*, phagocytes in vitro. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 129(1), 49-55.

Yaşar, P.; Ayaz, G.; User, S.D.; Güpür, G.; & Muyan, M. (2017). Molecular mechanism of estrogen–estrogen receptor signaling. *Reproductive medicine and biology*, 16(1), 4-20.

Yeaman, G.R.; Guyre, P.M.; Fanger, M.W.; Collins, J.E.; White, H.D.; Rathbun, W.; & Wira, C.R. (1997). Unique CD8+ T cell-rich lymphoid aggregates in human uterine endometrium. *Journal of leukocyte biology*, 61(4), 427-435.

Zúñiga Piña, C.C. (2014). Caracterización de perros diagnosticados con hipotiroidismo en el Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Chile, Sede Facultad.

Zwida, K.; & Kutzler, M.A. (2016). Non-reproductive long-term health complications of gonad removal in dogs as well as possible causal relationships with post-gonadectomy elevated luteinizing hormone (LH) concentrations. *J Etiol Anim Health*, 1(002).