

Cuantificación de células plasmáticas en cuello uterino de cerda, en fase folicular y lútea del ciclo estral

Rosa Emilia Lavielle*
Mario Pérez Martínez*
Rafael Hernández González*
José J. Martínez Maya**

Resumen

El propósito de este estudio fue conocer el número y patrón de distribución de las células plasmáticas (CP) presentes en el cuello uterino (CU) de cerdas bajo diferentes condiciones hormonales. Para realizar los análisis cuantitativo y de distribución se tomaron fragmentos de 2 cm³ del CU de los segmentos craneal, medio y caudal de cerdas púberes en fase folicular y lútea del ciclo estral, sacrificadas en el rastro de cerdos ABC del Estado de México. Las muestras se fijaron durante 24 h en solución de formol salino, se procesaron, se incluyeron en parafina y se hicieron cortes de 6 µg de grosor y se tiñeron con colorante de Giemsa. Con el objetivo de 40 X se contó el número total de CP en 16 campos seleccionados al azar y se determinó su número por mm². El análisis estadístico por la prueba de análisis de varianza de dos vías mostró diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los segmentos anatómicos y las condiciones hormonales estudiadas. Tales resultados sugieren que los segmentos craneal y medio del sistema inmunosecretor del endocérvix de la cerda en fase folicular posee mayor capacidad para la producción local de anticuerpos, en comparación con el segmento caudal, y que la condición hormonal que prevalece en las cerdas influye sobre el número de CP existentes en el CU.

Introducción

Las células plasmáticas (CP), o linfocitos B estimulados, son elementos del sistema inmunitario que participan en los procesos de protección del organismo, ya que sintetizan y secretan inmunoglobulinas (Ig) en respuesta a un estímulo antigénico.²

Se les encuentra en el tejido conjuntivo de cualquier parte del organismo. Sin embargo, existe evidencia experimental que indica que son más numerosos en las regiones corporales expuestas continuamente a infecciones, como es el caso del epitelio de revestimiento de los órganos del aparato genital, en donde a nivel de perineo residen permanentemente microorganismos.²

Morfológicamente estas células se caracterizan por ser voluminosas y ovoides, presentan un núcleo excéntrico y abundante retículo endoplásmico rugoso.²⁰

El cuello uterino (CU) de la cerda, como en otras especies animales domésticas, desempeña un papel fundamental en el proceso reproductivo, ya que funciona como una válvula con capacidad de contraerse o relajarse según la situación hormonal de la hembra; posee células que secretan un moco claro y fluido durante el estro con efecto antibacteriano y constituye un sistema inmunosecretor, pues secreta niveles relativamente altos de Igs en ciertas etapas del ciclo estral.^{9,10}

Dado que la morfofisiología del útero es regulada por la secreción ovárica de estrógenos y progesterona, en algunas especies animales se ha demostrado que la etapa del ciclo estral es un factor determinante de la resistencia del útero a infecciones, ya que la síntesis y secreción uterina de Igs experimenta una variación cíclica.⁶ Así, en la rata, la secreción de IgG e IgA es máxima en el proestro, cuando la concentración plasmática de estrógenos es máxima.¹⁹ Por otro lado, en la yegua el número de CP endometriales tiende a ser mayor durante la fase lútea.¹⁸

No obstante que dentro de las causas frecuentes de falla reproductiva en la cerda se encuentran las enfermedades infecciosas uterinas^{11,13} y que las CP constituyen a dicho nivel un sistema inmunitario local, no existen estudios sistemáticos que determinen el número y distribución de estas células en las distintas porciones anatómicas del CU de la cerda bajo diversas condiciones hormonales. Ello contribuiría a conocer si su número y patrón de distribución pudiera influir en la capacidad de respuesta inmune del CU y si dicha población celular experimenta cambios cuando el útero es influenciado por las hormonas ováricas.

Con base en estudios histoquímicos y de determinación de concentración de Igs efectuados en útero de diferentes especies animales, en los que se indica que la

Recibido para su publicación el 2 de febrero de 1993

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

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

población de CP uterinas experimenta variaciones en su número, en consecuencia, en el grado de síntesis de Igs en las distintas etapas del ciclo estral de la hembra,^{6,16,17} los objetivos de este estudio fueron: 1) Cuantificar y describir el patrón de distribución de las CP existentes en el segmento craneal, medio y caudal del CU de cerdas en fase folicular y lútea del ciclo estral y 2) Determinar la posible existencia de diferencias cuantitativas entre los tres segmentos anatómicos, así como entre las dos fases del ciclo estral estudiadas.

Material y métodos

Se tomaron fragmentos de 2 cm³ de 20 CU en fase folicular y 19 CU en fase lútea del ciclo estral de cerdas púberes Yorkshire-Landrace, clínicamente sanas y sin lesiones sugestivas de procesos inflamatorios a la inspección, en el rastro y frigorífico de cerdos ABC del Estado de México.

La fase del ciclo estral se determinó con base en la morfología ovárica.¹⁵ Para la fase folicular se consideraron los ovarios que presentaban folículos con un diámetro externo de 8 a 12 mm; para efectuar la medición se empleó un vernier y para la fase lútea se consideró la existencia de cuerpos lúteos maduros.

Las regiones anatómicas muestreadas fueron: El segmento craneal, medio y caudal del CU. Los fragmentos tomados se fijaron en solución del formol salino durante 24 h y se procesaron conforme el método de inclusión en parafina, se efectuaron cortes con un microtomo a un espesor de 6 µm, los cuales se tiñeron con hematoxilina-eosina para observar la organización histológica general del CU y con Giemsa para realizar el conteo de las CP. Debido a que estas células tienen abundante cantidad de ácido ribonucleico (ARN), se consideran pironinófilas. La pironina es un colorante básico tetraetildiaminoxanteno con afinidad especial por el ARN, por lo que algunos cortes se tiñeron con solución de verde-metil-pironina.^{2,4,8}

Para el conteo celular se consideró el tejido conjuntivo subepitelial de los pliegues del CU. Se contaron las células en 16 campos al azar para conocer su población por mm², para lo cual se utilizó un ocular con retícula micrométrica* y el objetivo 40X.

Para determinar las diferencias en el número de CP entre los tres segmentos anatómicos estudiados, así como para cada fase del ciclo estral, se efectuó un análisis de varianza (ANDEVA) de dos vías;¹² asimismo, se realizó paralelamente una prueba de Bartlett para determinar homogeneidad de varianzas y aceptar la prueba de ANDEVA, mediante el paquete estadístico Epistat**.

A partir de los resultados obtenidos, se realizó una comparación entre grupos de acuerdo con los segmentos anatómicos, por medio de un análisis de diferencia mínima significativa honesta.³

* Marca Zeiss

** Epistat Services. Tracy L. Gustavson, 1987

Resultados

Se evidenció la existencia de CP en los cortes teñidos con solución de verde-metil-pironina. Las CP se localizaron principalmente a nivel de la lámina conjuntiva subepitelial de los pliegues cervicales en su porción apical y algunos intraepitelialmente.

Los valores promedio obtenidos del conteo celular en los tres segmentos muestreados para cada fase se presentan en la Figura 1.

Hubo diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) entre los promedios de las CP cuantificadas en los diferentes segmentos estudiados en la fase folicular, siendo distinto el segmento posterior con respecto a los otros dos.

En cuanto a los promedios obtenidos para la fase lútea, no hubo diferencia significativa entre los tres segmentos. Sin embargo, hubo diferencia estadística entre la fase folicular y lútea del ciclo estral, de las cuales la fase folicular fue menor.

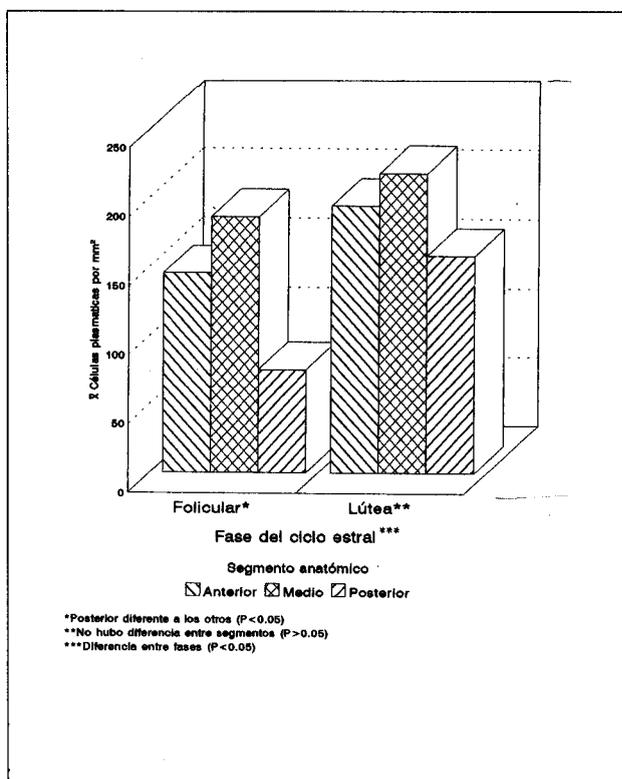


Figura 1. Promedio de células plasmáticas (CP) por mm² en diferentes segmentos de cuello uterino de cerda en dos fases del ciclo estral

Discusión

Los resultados obtenidos denotan que la cantidad de CP existentes en la mucosa de las distintas porciones anatómicas del CU es diferente, ya que la mayor cantidad de éstas se encontró en los segmentos craneal y medio en ambas fases del ciclo estral. Ello sugiere que

la capacidad de síntesis local de Igs por el endocérvix de la cerda es mayor en esta porción anatómica, en relación con el segmento caudal. En cuanto a la fase del ciclo estral, el promedio de CP es mayor cuando la cerda se encuentra en fase lútea, en comparación con los valores obtenidos para la fase folicular. A partir de los resultados obtenidos, se infiere que el comportamiento de estas células obedece a lo aseverado por otros autores, en cuanto a que las variaciones cíclicas en la concentración de las hormonas sexuales en la sangre y en los tejidos modifican el comportamiento de algunas subpoblaciones celulares que participan en la respuesta inmune.^{1, 5, 10, 14} El mayor número de CP cuantificado en los segmentos craneal y medio del endocérvix en fase folicular, probablemente se deba a que en la medida que la mucosa del CU es más craneal, está más protegida del ataque antigénico; asimismo, es probable que influya sobre el patrón de variación del número de CP el que en esta especie animal el semen es depositado a nivel uterino durante la eyaculación.

El patrón de variación del número de CP encontrado en este estudio coincide con lo informado por Lozano y Tolosa⁷ para la población de células cebadas (CC) en la mucosa del CU de ganado bovino Cebú bajo diferentes condiciones hormonales. Lo anterior es relevante, ya que las CC poseen receptores para algunos tipos de Igs, lo que sugiere una relación estrecha entre ambos tipos celulares.

La inmunocompetencia es un proceso multifactorial en el que están involucrados como moduladores los sistemas nervioso, endocrino e inmunitario, por lo que al interpretar los resultados obtenidos en este tipo de estudios, es necesario considerar los tres sistemas para comprender mejor los niveles de sus interacciones.

Abstract

The objective of this study was to find out the number and pattern distribution of plasmocytes (P) present in the *cervix uteri* (CU) of gilts under different hormonal conditions. Gilts in the follicular and luteal phases were sampled in a slaughterhouse in order to perform quantitative and distribution studies. Two cm³ samples from cranial, medium and caudal regions of the CU were taken and immersed in saline-formaline solution during 24 hours. Thereafter, they were processed and included in paraffin wax and cut in thin 6 µm sections and stained with Giemsa. The slides were observed with a light microscope under the 40X objective. The total number of P were counted in 16 fields selected at random to determine the number of P per mm². Statistical analysis showed significant differences ($P < 0.05$), when anatomical regions and hormonal conditions were compared. These results suggest that the immune secretory system of cranial and middle parts of the CU in the gilt shows different ability for local production of

antibodies due to differences both in pattern distribution of P within anatomical regions and in the response to hormone conditions.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento al Técnico Emilio Francisco López López por el apoyo brindado en el procesamiento histológico.

Literatura citada

1. Ansar-Ahmed, S., Penhale, W.J. and Talal, N.: Sex hormones, immune responses and autoimmune diseases. *Am. J. Pathol.*, **121**: 531-551 (1985).
2. Banks, J.W.: Applied Veterinary Histology. *Williams & Wilkins*, Baltimore, Maryland, 1974.
3. Estrada, F.E., Peralta, Z.L. y Rivas, M.P.: Manual de Técnicas Histológicas. *A.G.T.*, México, D.F., 1982.
4. García, T.F. y Ocampo, L.A.: Interacciones entre los sistemas inmunitario y gonadal. *Ciencia*, **42**: 155-169 (1991).
5. Lander-Chacin, M.F., Hansen, P.J. and Drost, M.: Effects of stage of the oestrus cycle and steroid treatment of uterine immunoglobulin content and polymorphonuclear leukocytes in cattle. *Theriogenology*, **34**: 1169-1184 (1990).
6. Lozano, C.B. y Tolosa, S.J.: Cuantificación de células cebadas y de eosinófilos en la mucosa del cuello uterino de ganado bovino Cebú en diferentes etapas reproductivas. *Vet. Méx.*, **20**: 393-396 (1989).
7. Lynch, M., Raphael, S., Mellor, L., Spare, D. e Inwood, M.: Métodos de Laboratorio. *Interamericana*, México, D.F., 1977.
8. Márques de, C.: Probabilidad y Estadística. *McGraw-Hill*, México, D.F., 1990.
9. Mitchell, G., Liu, I., Perryman, L., Stabenfeldt, G. and Hughes, J.P.: Preferential production and secretion of immunoglobulins by the equine endometrium-a mucosal system. *J. Reprod. Fert.*, **32**(Suppl.): 161-168 (1982).
10. Murdoch, A., Buckley, C.H. and Fox, H.: Hormonal control of the secretory immune system of the human uterine cervix. *J. Reprod. Immunol.*, **4**: 23-30 (1982).
11. Sims, M. and Eiler, H.: Porcine mastitis-metritis-agalactia (MMA) syndrome: Mammary gland responsiveness to oxytocin given to healthy sows during lactation. *Am. J. vet. Res.*, **40**: 1104-1106 (1979).
12. Steel, D. and Torrie, H.: Biestadística: Principios y Procedimientos. *McGraw-Hill*, México, D.F., 1989.
13. Sunyol, O.M. y Doperto, J.: Tratamiento profiláctico y terapéutico del síndrome metritis, mastitis y agalactia del porcino. *Vet. Méx.*, **5**: 119-124 (1974).
14. Tabibzadeh, S. and Satyaswaroop, P.: Sex steroid receptors in lymphoid cells of human endometrium. *Am. J. Clin. Pathol.*, **91**: 656-663 (1989).
15. Valencia, M.J.: Fisiología de la Reproducción Porcina. *Trillas*, México, D.F., 1986.
16. Waelchli, R.O. and Winder, N.C.: Immunohistochemical evaluation of the equine endometrium during the oestrus cycle. *Equine vet. J.*, **19**: 299-302 (1987).
17. Watson, E.D. and Stokes, C.R.: Plasma cell numbers in uteri of mares with persistent endometritis and in ovariectomised mares treated with ovarian steroids. *Equine vet. J.*, **20**: 424-425 (1988).
18. Wielen van der, A.L. and King, G.J.: Intraepithelial lymphocytes in the bovine uterus during the oestrus cycle and early gestation. *J. Reprod. Fert.*, **70**: 457-462 (1984).
19. Wira, C.R. and Sandoe, C.P.: Sex steroid hormone regulation of IgA and IgG in rat uterine secretions. *Nature*, **268**: 534-536 (1977).
20. Zapata, A.G. and Cooper, E.L.: The Immune System: Comparative Histophysiology. *John Wiley and Sons*, London, 1990.