

Distribución diferencial de células cebadas en el cuello uterino de cerdas con desarrollo folicular y cuerpo lúteo ováricos

Roberto Prado Méndez*,**

Rosa Emilia Lavielle**

Santiago R. Anzaldúa Arce**

Mario Pérez Martínez**

Abstract

The objective of this study was to find out the number and pattern of distribution of mast cells (MC) present in the cervix uteri (CU) of the sow under two ovarian conditions. Sows from a slaughterhouse with ovarian follicles (8-12 mm diameter) and functional corpus luteum were sampled in order to perform quantitative- and distribution studies of mast cells. Two cm³ samples from cranial, medium and caudal regions of the CU were taken, immersed in Bouin solution for 12 hours, and afterwards immersed in 70% ethanol. Thereafter, they were processed, included in paraffin wax, cut in thin 6 µm sections, and stained with toluidine blue. The total number of MC was counted in 16 fields selected at random to estimate the mm² population. Statistical analysis showed significant differences (P<0.05) when anatomical regions and hormonal conditions were compared. This suggests that these portions have different cell capacity due to differences both in pattern of distribution of MC within anatomical regions, and in response to hormone conditions.

KEY WORDS: Mast Cells, Cervix Uteri, Sow.

Resumen

Diversos hallazgos experimentales sugieren la participación de las hormonas esteroides ováricas sobre la regulación de la población de células cebadas (CC) en órganos del aparato reproductor femenino. Con el propósito de conocer la distribución de la población de células cebadas en tres porciones anatómicas del cuello uterino (CU) de cerdas con diferentes características morfológicas ováricas, se estudiaron los CU de 20 cerdas púberes clínicamente sanas, 10 con desarrollo folicular y las restantes con cuerpo lúteo funcional. Se tomaron fragmentos de 2 cm² de los segmentos craneal, medio y caudal del CU y se procesaron mediante la técnica de inclusión en parafina. Los cortes fueron teñidos con azul de toluidina y posteriormente se contaron las CC presentes por mm². Hubo diferencia estadística significativa (P< 0.05) entre los tres segmentos anatómicos estudiados, en las dos fases del ciclo estral, resultando una mayor cantidad de CC en el CU de cerdas con desarrollo folicular respecto de las cerdas con cuerpo lúteo. En cada fase se encontró diferencia significativa entre el segmento craneal con respecto a los dos segmentos anatómicos restantes. Estos resultados sugieren que la dinámica funcional de las CC del CU de la cerda varía dependiendo de su porción anatómica y de la condición morfofuncional ovárica que predomina en determinado momento del ciclo estral.

PALABRAS CLAVE: Células cebadas, cuello uterino, cerda

Recibido el 28 de septiembre de 1998 y aceptado el 2 de marzo de 1999.

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

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

Introducción

El cuello uterino (CU) es una estructura cilíndrica de pared gruesa, que constituye la porción estrecha posterior del útero. Presenta una porción vaginal, que se proyecta hacia el interior de la cavidad de la vagina.^{1,2}

Anatómicamente la mucosa del CU de la cerda se caracteriza por presentar bordes transversales o espirales alternados en forma de anillos, que se adaptan al glande del pene del verraco durante la cópula.^{1,2}

Histológicamente el CU presenta una pared gruesa, muscular y rica en fibras elásticas. La mucosa del CU presenta diferencias en sus características histológicas. Estas diferencias se han relacionado con las funciones propias que desempeña cada uno de sus segmentos anatómicos y el grado de exposición a antígenos³. La mucosa presenta un epitelio cilíndrico simple, con abundantes células mucígenas, y la lámina propia está compuesta de tejido conjuntivo denso irregular que se edematiza y se torna laxo durante el estro^{1,4}. El CU desempeña diversas funciones importantes en el proceso reproductivo; tiene la capacidad de contraerse o relajarse dependiendo de la situación hormonal de la hembra, las células secretoras que forman parte de su epitelio de revestimiento producen un moco claro y fluido durante el estro con efecto antibacteriano; durante la gestación, produce un material espeso que funciona como sellador que permite mantener el contenido uterino y funciona como un sistema inmunosecretor local^{1,5,6}.

El ciclo estral de la cerda comprende dos fases reproductivas bien diferenciadas, la fase folicular o estrogénica y la lútea o progestacional.^{1,7} Debido a que la morfo-fisiología del útero es regulada en parte por la secreción ovárica de estrógenos y progesterona, bajo la influencia de estas hormonas el útero experimenta cambios histológicos importantes⁴. Entre los cambios histológicos uterinos inducidos por los estrógenos, destacan los de tipo vascular, como el aumento de la permeabilidad vascular, aumento del peso húmedo uterino y eosinofilia uterina^{8,9,10}.

La edematización que presenta el endometrio y el miometrio durante el proestro y estro coincide con el máximo desarrollo folicular y, en consecuencia, con los niveles máximos de estrógenos, dichos eventos se asemejan a los observados durante el proceso inflamatorio^{8,9,10,11}.

Evidencias experimentales sugieren que estos cambios se deben a la acción de los estrógenos sobre las células cebadas del útero, debido a que los altos niveles de estrógenos inducen la degranulación de estas células con el aumento consecuente de histamina a nivel tisular¹².

Las células cebadas (CC) o mastocitos son elementos del tejido conjuntivo que se caracterizan por presentar gran cantidad de gránulos basófilos en su citoplasma, que presentan metacromacia cuando se tiñen con anilinas básicas^{13,14}. Dichos gránulos contienen diferentes sustancias de importancia fisiológica en los mamíferos; entre los mediadores químicos de las CC conocidos hasta

el momento, están: mediadores preformados; histamina (HA), en algunas especies serotonina (5-HT) y en los rumiantes se ha informado de la presencia de dopamina; factor quimiotáctico para neutrófilos y eosinófilos, activadores de cininas, complemento y sistemas de coagulación; mediadores asociados a los gránulos: heparina y condroitín sulfatos; enzimas proteolíticas: tripsina, proteasas, sustancia de reacción lenta de la anafilaxia (leucotrienos C4 y D4) y mediadores generadores de activación: prostaglandinas, ácido hidroxílico, eicosaédrico, ácido hidroperoxieicosatetraenoico, leucotrienos y factor activador de plaquetas^{13,14,15,16}.

Se ha propuesto que la HA es un mediador de la acción estrogénica, ya que al inyectarla en el lumen uterino de la rata induce un incremento en el contenido de agua y vasodilatación, dichos cambios corresponden a los observados en la respuesta temprana no genómica, inducida por los estrógenos, cuatro horas después de su administración¹⁷.

Con base en estudios efectuados respecto de la cuantificación y distribución de las CC en las diferentes etapas del ciclo estral en animales de laboratorio^{5,18,19,20,21,22,23,24,25} y en algunas especies de interés zootécnico^{5,11,26,27,28}, se ha destacado que estas células son elementos dinámicos del tejido conjuntivo y se ha propuesto que su actividad es influenciada por la concentración de hormonas esteroideas de origen ovárico; asimismo, se ha informado de variaciones en el número de CC en las glándulas de Harder del hámster sirio durante el ciclo estral y la gestación²⁹.

Por los antecedentes expuestos, resulta evidente que es necesario el estudio de las CC en el aparato reproductor de las diferentes especies animales domésticas, tomando en cuenta la dificultad de la extrapolación de resultados de una especie a otra, debido a las particularidades endocrinológicas de cada especie. A la fecha no se han efectuado estudios respecto a la distribución de las CC en el CU de la cerda con diferentes condiciones fisiológicas ováricas, por lo que en el presente trabajo se tuvo como propósito estudiar la distribución de estas células en las porciones craneal, media y caudal del cuello uterino de cerdas adultas, con diferentes características morfológicas ováricas.

Material y métodos

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Histología del Departamento de Morfología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad Nacional Autónoma de México. El material biológico se obtuvo en el rastro y frigorífico de cerdos ABC, localizado en el km 6.6 de la carretera México-Texcoco, Estado de México, México.

Se utilizaron los cuellos uterinos (CU) de cerdas púberes Yorkshire-Landrace, con peso entre los 90 y 100 kg⁶ en fase folicular (n = 10) y en la fase lútea (n = 10) del ciclo estral y sin lesiones macroscópicas sugestivas de procesos inflamatorios a la inspección del útero.

La condición funcional ovárica se estimó con base en la morfología ovárica ⁷. Los ovarios que presentaban folículos con un diámetro externo de 8-12 mm, medidos con un Vernier, se consideraron dentro de la fase folicular del ciclo estral y los ovarios que presentaban cuerpos lúteos maduros se consideraron en la fase lútea del ciclo. Asimismo, se consideró la apariencia histológica de las glándulas endometriales del útero. Inmediatamente después de obtener los CU se tomaron fragmentos de 2 cm³ de los segmentos craneal, medio y caudal. Estas muestras se fijaron en solución de Bouin durante 12 horas, y después de ese tiempo se mantuvieron en alcohol al 70% hasta su procesamiento, posteriormente se procesaron de acuerdo con el método de inclusión en parafina ³⁰ y se realizaron cortes a un espesor de 6 µm, los cuales se tiñeron con hematoxilina-eosina para observar la organización histológica general del CU, y con azul de toluidina para efectuar el conteo de las CC ³¹.

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 ello se utilizó un ocular con retícula micrométrica y el objetivo de 40X ^{28, 32, 33}, se determinó el promedio y la desviación estándar (DE) para los animales con desarrollo folicular y con cuerpo lúteo, así como para cada una de las tres porciones anatómicas consideradas. Con el fin de determinar las posibles diferencias en el número de CC entre los tres segmentos anatómicos estudiados, así como entre ambas fases del ciclo estral, se realizó un análisis de varianza de dos vías ³⁴ y después se efectuó una comparación entre grupos por medio de un análisis de diferencia mínima significativa honesta ³⁵.

Resultados

Los promedios de CC por mm² en la fase folicular y lútea para las porciones craneal, media y caudal se resumen en el Cuadro 1. En este último puede observarse que existió diferencia significativa ($P<0.05$) entre las dos fases del ciclo estral estudiadas, y dentro de cada fase se encontró diferencia significativa entre el segmento craneal respecto de los dos segmentos anatómicos restantes (Cuadro 1 y Figuras 1 y 2).

Discusión

De acuerdo con los resultados obtenidos, se encontró que la porción craneal del CU presenta un mayor número de CC por mm² en comparación con las porciones media y caudal. En un estudio realizado por Lozano y Tolosa ²⁸ en la mucosa del CU de vacas de raza Cebú en fase estrogénica y luteínica del ciclo estral, se encontró un patrón de distribución similar al que se informa en este estudio; es decir, la cantidad de CC disminuyó del tercio anterior al posterior ²⁸. Es probable que la distribución diferencial de CC encontrada en las tres porciones del CU tenga relación con el grado de exposición a antígenos

Cuadro 1

PROMEDIO Y DESVIACION ESTANDAR DE CELULAS CEBADAS POR mm² EN TRES SEGMENTOS DEL CUELLO UTERINO DE CERDA CON DIFERENTES CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS DEL OVARIO

Segmento anatómico	Con desarrollo folicular X ± DE	Con cuerpos lúteos X ± DE
Craneal*	27.2 ± 5.3	12.3 ± 4.2
Medio	14.6 ± 6	5.9 ± 2.7
Caudal	10.7 ± 4.7	4.6 ± 2.2

*Segmento craneal diferente a los demás ($p<0.05$).



Figura 1. Células cebadas (flechas) en la porción craneal del cuello uterino de cerda con folículos ováricos de 8-12 mm de diámetro. Las células fueron teñidas con azul de toluidina, 312 X.

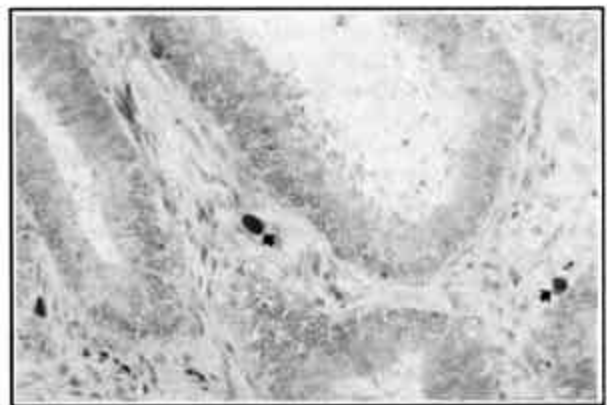


Figura 2. Células cebadas (flechas) en la porción media del cuello uterino de cerda con cuerpo lúteo maduro. Las células fueron teñidas con azul de toluidina, 400 X.

a lo largo de la mucosa cervical. Tomando en cuenta que la porción caudal del CU está más expuesta a un posible ataque antigénico y que la estimulación antigénica desencadena la degranulación de las CC es probable que estas dos situaciones sean el motivo por el que identificamos un menor número de CC en dicha porción anatómica.²⁸. Esta distribución diferencial sugiere la importancia funcional de las CC en las distintas porciones del CU.

Los efectos de los estrógenos sobre las CC parecen ser directos debido a que se ha demostrado la presencia del receptor a estrógenos en las CC de la vejiga de mujeres con cistitis intersticial³⁶; dentro de la fisiopatología de esta enfermedad se ha involucrado a las CC pues al parecer los estrógenos incrementan la secreción de histamina, la cual desencadena el proceso inflamatorio de la vejiga. En enfermedades alérgicas como el asma (en las que las CC se han involucrado ampliamente) se ha observado una relación con base en la condición hormonal de los pacientes, pues se exacerba en las mujeres que se encuentran en el periodo premenstrual^{37, 38}. Aunque no existen informes de la presencia de receptores a estrógenos en las CC de otros órganos y especies domésticas, es factible suponer su existencia con base en los diversos cambios que ocurren en las poblaciones celulares del aparato reproductor femenino.

En virtud de que la histamina es una sustancia responsable de muchos de los cambios vasculares que experimenta el útero durante la fase estrogénica del ciclo estral³¹, y tomando en cuenta que a la etapa luteínica del ciclo estral se le considera como el periodo "seco" del ciclo², es probable que durante el metaestro y el diestro no se requiera de importantes concentraciones de histamina tisular, lo que ocasionaría que las CC disminuyan su actividad durante esta fase y se encuentren en una etapa de "reposo", periodo durante el cual estarían en proceso de resíntesis de sus gránulos, por lo que se dificulta su observación³⁹.

Con base en las diferencias cuantitativas obtenidas en este estudio, se sugiere que estas células experimentan variabilidad en su población, influenciadas por la actividad ovárica durante el ciclo estral.

Con los resultados obtenidos en el presente estudio, se informa de la distribución de las CC en el CU de la cerda adulta y de su variación cuantitativa en animales con desarrollo folicular y con cuerpo lúteo ováricos. Estos resultados constituyen una base para seguir estudiando la interacción CC y actividad ovárica. Recientemente se ha caracterizado mediante técnicas inmunohistoquímicas a un grupo de células neuroendocrinas o paraneuronas en el epitelio de diversos órganos del aparato urogenital de la cerda, estas células resultan interesantes debido a que se ha identificado a una subpoblación que sintetiza serotonina (5-HT), por lo que sería interesante investigar su posible relación funcional con las CC presentes en el aparato reproductor⁴⁰.

Agradecimientos

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

Referencias

1. Hafez ES. Reproducción e inseminación artificial en animales. 5a ed. México (DF): Interamericana, 1989.
2. Cupps PT. Reproduction in domestic animals. 4th ed. San Diego (Ca): Academic Press, 1991.
3. Acosta A, Cruz L. Inmunología de las mucosas. México (DF): Atelier Producciones S.A. de C.V., 1992.
4. Banks WJ. Histología veterinaria aplicada. 2a ed. México (DF): El Manual Moderno, 1995.
5. Krishna A, Beesley K, Terranova PF. Histamine, mast cells and ovarian function. *J Endocrinol* 1989;120:363-371.
6. Murdoch A, Buckley C, Fox H. Hormonal control of secretory immune system of human uterine cervix. *J Reprod Immunol* 1982;4:23-30.
7. Valencia MS. Fisiología de la reproducción porcina. México (DF): Trillas, 1986.
8. Tchernitchin A. Characterization of the estrogen receptors in the uterine and blood eosinophil leucocytes. *Experientia* 1976;32:1240-1242.
9. Tchernitchin A, Galand P. Some uterine estrogenic responses depend on systemic, not local, estrogen levels. *Biol Reprod* 1981;24(Suppl. 1):148A.
10. Tchernitchin A. Eosinophil mediated non-genomic parameters of estrogen stimulation, a separate group of responses by an independent mechanism. *J Steroid Biochem* 1983;19:95-100.
11. Kunawongrit A, Karlberg K, Einarsson S. The relationship between plasma levels of estradiol-17 progesterone and the consistency of the cervix in the sow. *Theriogenology* 1983;20:61-66.
12. Spaziani E, Szego CM. Further evidence for mediation by histamine of estrogen stimulation of the rat uterus. *Endocrinology* 1959;64:713-723.
13. Anzaldúa AS. Biología de la célula cebada. Estudio recapitulativo (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1985.
14. Stephen J, Galli MD. New concepts about the mast cell. *New Eng J Med* 1993;328:257-265.
15. Heyworth MF, Jones AL. Immunology of the gastrointestinal tract and liver. New York: Raven Press, 1988.
16. Huntley JF. Mast cells and basophils: a review of their heterogeneity and function. *J Comp Pathol* 1992;107:349-372.
17. Lagunoff D. The mechanism of histamine release from mast cells. *Biochem Pharmacol* 1972;21:1889-1896.
18. Ashton F, Gibbons E, Chang M. Number of mast cells in the rat uterus with special reference to its relation to hormonal treatment and decidual response. *Biol Reprod* 1972;6:193-203.

19. Brandon JM, Bibby MC. A study of changes in uterine mast cells during early pregnancy in the rat. *Biol Reprod* 1979;20:977-980.
20. Brandon JM, Evans JE. Changes in uterine mast cells during the estrous cycle in the Syrian hamster. *J Anat* 1983;167:241-247.
21. Brandon JM, Evans JE. Observations on uterine mast cells during pregnancy in the Vole *Microtus agrestis*. *Anat Rec* 1984;208:515-520.
22. Harvey BE. Mast cells distribution in the uterus of cycling and pregnant hamsters. *Anat Rec* 1964;148:507-515.
23. Jones ER, Duvall D. Rat ovarian mast cells: distribution and cyclic changes. *Anat Rec* 1980;197:493-498.
24. Krishna A, Terranova PF. Alterations in mast cell degranulation and ovarian histamine in the proestrous hamster. *Biol Reprod* 1985;32:1211-1217.
25. Levier RR, Spaziani E. The effects of estradiol on the occurrence of mast cells in the rat uterus. *Exp Cell Res* 1966;41:244-252.
26. Likar IN, Likar LJ. Acid mucopolysaccharids and mast cells in the bovine uterus at different stages of the sexual cycle. *Acta Endocrinol* 1964;46:493-506.
27. Lorenzana PJ. Variabilidad de células cebadas en útero de vaca bajo diversas condiciones hormonales (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1981.
28. Lozano CB, Tolosa SJ. Cuantificación de células cebadas y de los eosinófilos en la mucosa del cuello uterino del ganado bovino Cebú en diferentes etapas reproductivas. *Vet Méx* 1989;20:393-395.
29. Menendez-Pelaez A, Sainz RM, Mayo JC, Rodríguez-Colunga MJ, Vázquez-Rojo J, Antolin I, et al. Mast cells in the Harderian gland of female Syrian hamsters during the estrous cycle and pregnancy effects of the light/dark cycle. *J Reprod Immunol* 1993;25:51-61.
30. Flores EE, Zamora LP. Manual de técnicas histológicas. México (DF): AGT, 1982.
31. Gibbons AFE, Chang MC. Number of mast cells in the rat uterus with special reference to its relation to hormonal treatment and decidual response. *Biol Reprod* 1972;6:193-203.
32. Jones RE, Duvall D, Guillette LJ. Rat ovarian mast cells: distribution and cyclic changes. *Anat Rec* 1980;197:489-493.
33. Du Bois JA, Wordinger RJ, Dickey JF. Mast cells and lymphocyte variations in bovine oviduct. *J Anim Sci* 1976;42:1578.
34. Steel D, Torrie H. Bioestadística: principios y procedimientos. México (DF): McGraw Hill, 1989.
35. Márquez C. Probabilidad y estadística. México (DF): McGraw-Hill, 1990.
36. Pang-Cotureau-Bibbo MM, Sant GR, Theoharides TC. Bladder mast cell expression of high affinity oestrogen receptors in patients with interstitial cystitis. *Br J Urol* 1995;75:154-161.
37. Gibbs CJ, Coutts U, Lock R, Finnegan OC, White RJ. Premenstrual exacerbation of asthma. *Thorax* 1984;39:833-836.
38. Settipane RA, Simon RA. Menstrual cycle and asthma. *Ann Allergy* 1989;63:373-380.
39. Caulfield JP, Lewis AH, Austen KF. Secretion in dissociated human pulmonary mast cells. *J Cell Biol* 1980;85:299-311.
40. Czaja K, Sienkiewicz W, Vittoria A, Costagliola A, Cecio A. Neuroendocrine cells in the female urogenital tract of the pig, and their immunohistochemical characterization. *Acta Anat* 1996;157:11-19.