

154

2 ejem.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

---

**FACULTAD DE: MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**TITULO: CUANTIFICACION DE CELULAS CEBADAS EN  
CUELLO UTERINO DE CERDA EN FASE --  
FOLICULAR Y LUTEA DEL CICLO ESTRAL.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:**

**MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**P R E S E N T A :**

**ROBERTO PRADO MENDEZ**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**MEXICO D.F. 1994**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

154  
2 cje.  
RECEBIDA EN  
SECRETARIA  
AL  
DIA  
24  
DE  
MAYO  
1994

CUANTIFICACIÓN DE CÉLULAS CEBADAS EN CUELLO  
UTERINO DE CERDA EN FASE FOLICULAR Y LÚTEA  
DEL CICLO ESTRAL.

Tesis presentada ante la  
División de Estudios Profesionales de la  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia  
de la  
Universidad Nacional Autónoma de México  
para la obtención del título de  
Médico Veterinario Zootecnista

por

Roberto Prado Méndez

Asesores: M.V.Z. Rosa Emilia Lavielle  
M.V.Z. Mario Pérez Martínez

México, D.F.

1994

DEDICATORIA

Al Único que es digno de toda la honra y la gloria,

a mi Señor y Salvador

Jesucristo

## AGRADECIMIENTOS

Doy gracias a Dios por los Padres que me ha dado  
los cuales siempre me han ayudado en todo.

Agradezco a mis asesores  
por la oportunidad de realizar este trabajo.

## CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESÚMEN .....	1
INTRODUCCIÓN .....	2
OBJETIVOS .....	6
HIPOTESIS .....	6
MATERIAL Y MÉTODOS .....	7
RESULTADOS .....	9
DISCUSIÓN .....	10
CUADROS Y FIGURAS .....	14
LITERATURA CITADA .....	18

## RESUMEN

**PRADO MENDEZ, ROBERTO.** Cuantificación de células cebadas en cuello uterino de cerda en fase folicular y lútea del ciclo estral (Bajo la asesoría del M.V.Z. Rosa Emilia Lavieille y M.V.Z. Mario Pérez Martínez).

Con el propósito de conocer si existen diferencias cuantitativas en la población de células cebadas (CC) de la porción craneal, media y caudal de cuello uterino (CU) de cerdas en fase folicular y lútea del ciclo estral se efectuó el presente trabajo, para lo cual se utilizaron 20 CU de cerda púberes clínicamente sanas, 10 en fase folicular y las restantes en fase lútea. Se tomaron fragmentos de 2 cm<sup>3</sup> de los segmentos craneal, medio y caudal del CU, se fijaron en solución Bouin y se procesaron siguiendo el método de inclusión en parafina. Se efectuaron cortes de 6  $\mu$ m de espesor y se tñieron con azul de toluidina, posteriormente se contaron las CC existentes por mm, para lo cual se utilizó un ocular con retícula micrométrica. Hubo diferencia estadística significativa ( $P < 0.05$ ) entre las dos fases del ciclo estral estudiadas, resultando una mayor cantidad de CC en la fase folicular con respecto a la fase lútea, y dentro de cada fase se encontró diferencia significativa entre el segmento craneal con respecto a los dos segmentos anatómicos restantes. Lo anterior pudo deberse a que las hembras que se encontraban en fase folicular no habían alcanzado los niveles máximos de estrógenos y en consecuencia de LH, por lo que aún no había ocurrido la llamada "degranulación masiva" que se sugiere se presenta al momento de la ovulación. Con respecto a las diferencias cuantitativas encontradas en la población de CC de los 3 segmentos anatómicos estudiados, se sugiere que la población de dichas células de la porción del cuello uterino contigua al cuerpo del útero, tiene una mayor participación en los procesos celulares locales con respecto a la porción del CU distrofe con la vagina, ello influenciado por la condición hormonal endógena de la hembra.

## INTRODUCCION

El cuello uterino (CU) es una estructura cilíndrica de pared gruesa que constituye la porción estrecha posterior del útero. Presenta una porción vaginal la cual se proyecta hacia el interior de la cavidad de la vagina (8).

El CU de la cerda se caracteriza porque su mucosa tiene bordes transversales o espirales alternados llamados anillos, los cuales están dispuestos en forma de tirabuzón y se adaptan al contorno de la punta del pene del verraco durante la cópula (8).

Histológicamente presenta una pared gruesa, muscular y rica en fibras elásticas. 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 areolar durante el estro (8).

El CU de la cerda desempeña diversas funciones importantes en el proceso reproductivo:

a) Sirve como una válvula para cerrar el lumen uterino ya que tiene la capacidad de contraerse o relajarse dependiendo de la situación hormonal de la hembra, por lo que constituye una barrera física que impide la entrada de microorganismos patógenos; b) las células secretorias que forman parte del epitelio de revestimiento endocervical, secretan un moco claro y fluido durante el estro que tiene efecto



antibacteriano y durante la gestación produce un material espeso que funciona como sellador que permite mantener el contenido uterino, y c) funciona como un sistema inmuno secretor local (8,13,23).

En términos generales se considera que el ciclo estral de la cerda tiene una duración de 21 días y comprende dos fases reproductivas bien diferenciadas, la fase folicular o estrogénica y la fase lútea o progestacional (8,30).

Dado que la morfofisiología del útero es regulada por la secreción ovárica de estrógenos y progesterona bajo la influencia de estas hormonas el útero experimenta cambios histológicos fundamentales, para poder cumplir su función (8, 27, 28, 29).

Dentro de los cambios histológicos uterinos inducidos por los estrógenos destacan los de tipo vascular, como son: el aumento de la permeabilidad vascular, aumento del peso húmedo uterino y eosinofilia uterina (27,28,29). 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 (15, 27, 28, 29).

Existe evidencia experimental que indica que estos cambios son debidos a la acción de los estrógenos sobre las células cebadas del útero, en virtud de que altos niveles de estrógenos inducen la degranulación de estas células con el aumento consecuente de histamina a nivel tisular (24).

Las células cebadas (CC) o mastocitos fueron identificados por Ehrlich en 1877, como un grupo de células pertenecientes al tejido conjuntivo. Se caracterizan por ser globulosas y presentar una gran cantidad de gránulos basófilos en su citoplasma que presentan metacromacia, cuando se tiñen con anilinas básicas (1,26).

Los principales mediadores químicos de las CC conocidos hasta el momento son: Mediadores preformados, Histamina (HA), 5-Hidroxitriptamina, factores quimiotácticos para neutrófilos y eosinófilos, activadores de quininas, complemento y sistemas de coagulación, péptido intestinal, vaso activo y factor generador prostaglandínico de anafilaxia. Gránulos asociados, heparina y condroitin sulfatos, enzimas proteolíticas, triptasa, proteasas, factor inflamatorio de anafilaxia, mediadores generadores de activación, prostaglandinas, ácido hidroxílico eicosatetraenoico (HETES), ácido hidroperoxieicosatetraenoico (HPETES), leucotrienos y factor activador de plaquetas (1,10,26).

Se ha propuesto que la HA es un mediador de la acción estrogénica, ya que al inyectarla en el lumen uterino de 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 posteriores a su administración (16,22).

Se han realizado diversos estudios sobre la cuantificación y distribución de las CC en las diferentes etapas del ciclo estral en animales de laboratorio (2,3,4,5,9,11,12,13,18) y en algunas especies de interés zootécnico (15,19,20,21). En dichos trabajos se ha destacado que estas células son elementos dinámicos del tejido conjuntivo cuya cantidad y comportamiento son regulados por los niveles hormonales (estrógenos-progesterona) que caracterizan a cada etapa del ciclo estral.

Lozano (21) reportó una mayor cantidad de CC en el CU de ganado bovino cebú en etapa lútea en comparación a la etapa estrogénica. Por otro lado, durante la gestación se observó una disminución del primero al tercer trimestre; asimismo, la cantidad disminuyó del tercio anterior al posterior en todas las etapas estudiadas.

Por los antecedentes expuestos, resulta evidente que las CC están involucradas de manera importante en la fisiología del aparato reproductor femenino, por lo que se hace necesario el estudio sistemático de estas células en las diferentes especies animales domésticas bajo diferentes influencias hormonales para comprender mejor la biodinámica del útero.

## OBJETIVOS

1. Cuantificar y describir el patrón de distribución de las CC del CU de la cerda en su porción craneal, media y caudal en fase folicular y en fase lútea del ciclo estral.
2. Determinar si existen diferencias cuantitativas entre los valores promedio obtenidos para los diferentes segmentos anatómicos estudiados y entre ambas etapas del ciclo estral.

## HIPOTESIS

Las células cabadas del CU de la cerda adulta registran cambios en su número y distribución de acuerdo a la condición hormonal estrogénica o progestacional de la hembra, por lo que existen diferencias cuantitativas de estas células entre la fase folicular y la fase lútea del ciclo estral.

## MATERIAL Y METODOS

### Caracterización espacio temporal

El presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio 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.

### Material biológico.

Se utilizaron 16 CU de cerdas púberes Yorkshire-Landrace en fase folicular y 10 CU en fase lútea del ciclo estral, clínicamente sanas y sin lesiones macroscópicas sugestivas de procesos inflamatorios a la inspección.

### Diseño muestral.

La fase del ciclo estral se determinó con base en la morfología ovárica (36). Para la fase folicular se consideraron los ovarios que presentaban folículos con un diámetro externo de 8-12 mm. utilizando un vernier para efectuar la medición. Para la fase lútea se consideró la presencia de cuerpos lúteo maduros. Posteriormente se obtuvieron fragmentos de 2 cm<sup>3</sup> de los segmentos craneal, medio y caudal del CU.

#### Procesamiento y tinción de los tejidos.

Los fragmentos obtenidos se fijaron en solución de Bouin durante 12 horas y posteriormente se mantuvieron en alcohol al 70% hasta su procesamiento. Se utilizó este fijador debido a que en experiencias previas se ha observado que confiere una mayor nitidez y calidad metacromática a la obtenida con otras soluciones fijadoras. Posteriormente se procesaron de acuerdo al método de inclusión en parafina (6). Se realizaron cortes con un microtomo a un espesor de 6  $\mu$ m, los cuales se tñeron con hematoxilina-eosina para observar la organización histológica general del CU y con azul de toluidina para efectuar el conteo de las CC.

#### Conteo celular.

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  $\text{mm}^2$ . Para ello se utilizó un ocular con retícula micrométrica y el objetivo 40X.

#### Análisis de resultados.

Para 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 (25) y después se efectuó una comparación entre grupos por medio de un análisis de diferencia mínima significativa honesta (22).

**RESULTADOS**

Los promedios obtenidos en la fase folicular fueron:  $27.2 \pm 5.3$ ,  $14.6 \pm 5.6$  y  $10.7 \pm 4.7$  y en la fase lútea fueron:  $12.3 \pm 4.2$ ,  $5.9 \pm 2.7$  y  $4.6 \pm 2.2$  para los tercios craneal, media y caudal respectivamente.

Hubo diferencia estadística 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 con respecto a los dos segmentos anatómicos restantes (Cuadro 1 y Figura 1).

## DISCUSION

De acuerdo a los resultados obtenidos se encontró que la porción craneal del CU presenta un mayor número de CC por mm<sup>2</sup> en comparación con la porción media y caudal, las cuales manifestaron menor celularidad.

Lo anterior coincide con los resultados obtenidos en un estudio previo efectuado por Lavieille y colaboradores (17), respecto al patrón de distribución de las células plasmáticas del CU de cerdas púberes cíclicas, lo que confirma que para estas dos poblaciones celulares la porción del CU contigua al cuerpo del útero presenta una mayor celularidad influenciada por la condición hormonal endógena de la hembra.

Asimismo, en un estudio realizado por Lozano en la mucosa del CU de vacas de raza cebu en fase estrogénica y luteínica del ciclo estral (1989) se encontró un patrón de distribución similar al reportado en este estudio, es decir, la cantidad de CC disminuyó del tercio anterior al posterior (21).

En cuanto a lo observado para las fases del ciclo estral estudiadas resulta interesante el hecho de que la población por mm<sup>2</sup> de CC del CU bajo influencia hormonal estrogénica fue mayor en comparación con los valores obtenidos para la fase luteínica.



Krishna y Terranova (1985) efectuaron un estudio para conocer la correlación que existe entre los niveles de LH y la concentración de histamina en el ovario de hamster, concluyendo que los picos de esta gonadotropina constituyen una "señal" para que se presente una degranulación masiva de las CC, lo que se refleja en un incremento notable de la concentración de histamina a nivel tisular (12, 13, 14). Esta evidencia experimental coincide con lo observado por Harvey quien observó que al inyectar dosis crecientes de estrógenos por vía subcutánea a hamsters hembra ciclicas, la población de CC del útero disminuye notablemente (9).

Con base en las evidencias anteriormente señaladas, podemos considerar que la mayoría de las cerdas empleadas en el presente estudio no habían alcanzado los niveles máximos de estrógenos y en consecuencia de LH, por lo que es probable que aún no había ocurrido la llamada degranulación "masiva" que se sugiere se presenta al momento de la ovulación, situación que explica el porqué encontramos un mayor número de CC por mm<sup>2</sup> en el CU durante la fase folicular. Si tomamos en cuenta que dicha fase del ciclo estral de la cerda tiene una duración aproximada de 5 días y que consta a su vez de 2 etapas: proestro y estro, entonces resulta difícil con la metodología empleada en este estudio (morfología ovárica) detectar hembras que se encuentren en el mismo momento de la fase folicular, por lo que para futuros estudios se sugiere confrontar las características morfológicas macroscópicas del ovario con los niveles

hormonales séricos de estrógenos, LH y progesterona. Tomando en cuenta lo señalado anteriormente podemos inferir que la mayoría de las hembras utilizadas en este estudio se encontraban en la etapa de proestro tardío y estro temprano.

De los dos estudios referidos se puede concluir que en la etapa temprana de la fase folicular, el proceso de degranulación de las CC ocurre de manera gradual y continua, patrón fisiológico que está regulado por los niveles séricos de estradiol y LH. Respecto a los estrógenos sabemos que su patrón de síntesis y secreción natural ocurre de manera gradual y continua durante el proestro y alcanza su pico de secreción poco después de que concluye esta etapa de la fase folicular, aumento que coincide con el descenso del nivel de progesterona. A su vez los estrógenos inducen la liberación de LH lo que se considera es indispensable para que ocurran: la ovulación y los cambios vasculares uterinos característicos de esta etapa del ciclo estral.

Dado que la histamina es una sustancia que induce muchos de los cambios vasculares que experimenta el útero durante la fase estrogénica del ciclo estral y tomando en cuenta que a la etapa lútea del ciclo estral se le considera como el período seco del ciclo, entonces durante el metaestro y el diestro no se requiere de altas concentraciones de histamina tisular por lo que es probable que las CC durante esta fase disminuyan su actividad y se encuentren en una etapa de "reposo", período durante el cual

están en proceso de resíntesis de sus gránulos por lo que se dificulta su observación.

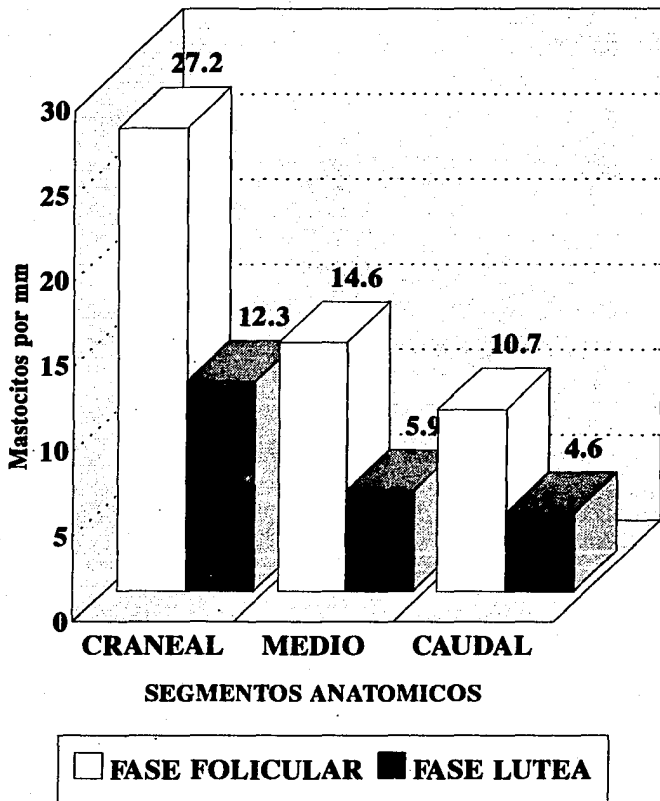
Con base en los resultados obtenidos en este estudio y considerando los valores reportados para la población de CC en diversos órganos del aparato reproductor de la hembra en diferentes especies animales, se puede concluir que estas células experimentan variabilidad en su población dependiendo de la influencia hormonal endógena en que se encuentra la hembra, por lo que se concluye que estas células no solo responden a estímulos de tipo inmunológico, sino también a estímulos endócrinos, como es el caso de los niveles de: estrógenos, progesterona y LH, por lo que se requiere seguir explorando la interacción: célula cebada/niveles-hormonales.

Por otro lado, la información obtenida incrementa nuestro grado de conocimiento respecto a la fisiología reproductiva del CU y asimismo nos ayuda a comprender la interacción que existe entre las CC y otros tipos celulares (7).

CUADRO 1

**PROMEDIO DE CELULAS-CEBADAS  
EN CUELLO UTERINO DE CERDA  
EN FASE FOLICULAR Y LUTEA DEL  
CICLO ESTRAL**

<b>SEGMENTO ANATOMICO</b>			
<b>FASE</b>	<b>CRANEAL X±DS</b>	<b>MEDIO X±DS</b>	<b>CAUDAL X±DS</b>
<b>FOLICULAR</b>	<b>27.2±5.3</b>	<b>14.6±5.6</b>	<b>10.7±4.7</b>
<b>LUTEA</b>	<b>12.3±2.7</b>	<b>5.9±2.7</b>	<b>4.6±2.2</b>



**Fig. 1 Promedio de mastocitos por mm<sup>2</sup> en diferentes segmentos del cuello uterino de cerda en dos fases del ciclo estral.**

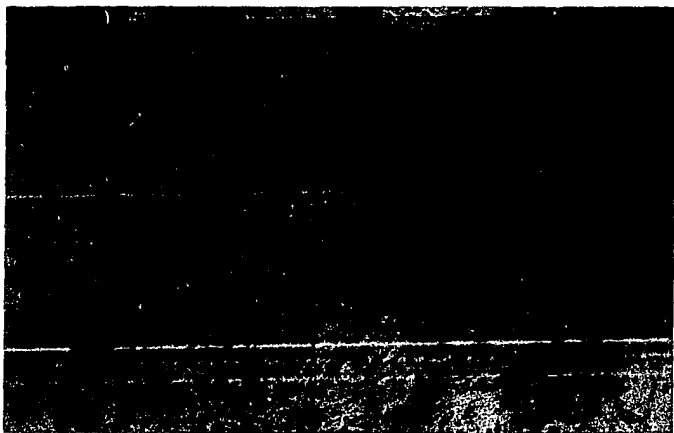


FIG. 2 CELULAS CEBADAS DE CUELLO UTERINO DE CERDA  
EN FASE FOLICULAR. 40X.

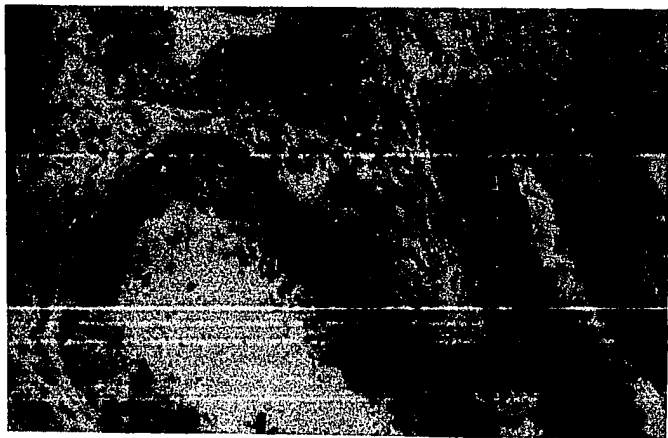


FIG. 3 CELULAS CEBADAS EN CUELLO UTERINO DE CERDA  
EN FASE LUTEA 40X.

## LITERATURA CITADA

1. Anzaldúa, R.S.: Biología de la Célula Cebada (Estudio recapitulativo). Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, D.F., 1985.
2. Ashton, F., Gibbons, E. and Chang, M.: Number of mast cells in the rat uterus with special reference to its relation to hormonal treatment and decidual response. Biol.Reproduc. 6: 193-203 (1972).
3. Brandon, J.M. and Bibby, M.C.: A study of changes in uterine mast cells during early pregnancy in the rat. Biol. Reproduc. 20: 977-980 (1979).
4. Brandon, J.M. and Evans, J.E.: Changes in uterine mast cells during the estrous cycle in the syrian hamster. J. Anat. 167: 241-247 (1983).
5. Brandon, J.M. and Evans, J.E.: Observations on uterine mast cells during early pregnancy in the Vole Microtus agrestis. Anat. Rec. 208: 515-520 (1984).
6. Flores, E.E. y Zamora, L.P.: Manual de Técnicas Histológicas, ed. AGT Editor. México, 1982.
7. Greenberg, G. and Burnstock, G.: A novel cell to cell interaction between mast cell and other cell types. Exp.Cell Res. 147: 1-13 (1983).
8. Hafez, E.S.: Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. 5a. ed. Interamericana. México 1989.



9. Harvey, B.E.: Mast cells distribution in the uterus of cycling and pregnant hamsters. Anat. Rec. **148**: 507-515 (1964).
10. Heyworth, M.F. and Ijones, A.L.: Immunology of the Gastrointestinal Tract and Liver. Ed. Rave Press. N.Y. 1968.
11. Jones, E. R. and Duvall, D.: Rat ovarian mast cells: distribution and cyclic changes. Anat. Rec. **197**: 493-498 (1980).
12. Krishna, A. and Terranova, P.F.: Alterations in mast cell degranulation and ovarian histamine in the proestrous hamster. Biol. Reprod. **32**: 1211-1217 (1985).
13. Krishna, A., Beesley, K. and Terranova, P.: Histamine, mast cells and ovarian function. J.Endocrinol. **120**: 367-371 (1989).
14. Krishna, A. and Terranova, P.F.: Compartmentalized mast cell degranulations in the ovarian hilum, fat pad, bursa and blood vessel regions of the cyclic hamster: relationships to ovarian histamine and blood flow. Acta Anat. **141**: 18-25 (1991).
15. Kunawongkrit, A., Karlberg, K. and Einarsson, S.: The relationship between plasma levels of estradiol-17B, progesterone and the consistency of the cervix in the sow. Theriogenology, **20**: 1 (1983).
16. Lagunoff, D.: The mechanism of histamine release from mast cells. Biochem. Pharmacol. **21**: 1889-1896 (1972).

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

17. Lavielle, R.E., Pérez, M.M., Hernández, G.R. y Martínez, M.J.: Cuantificación de células plasmáticas en cuello uterino de cerda en fase folicular y lútea del ciclo estral. Vet. Mex., 25: 29-31 (1994).
18. Levier, R.R. and Spaziani, E.: The effects of estradiol on the occurrence of mast cells in the rat uterus. Exp. Cells. Res. 41: 244-252 (1966).
19. Likar, I.N. and Likar, L.J.: Acid mucopolysacarides and mast cells in the bovine uterus at different stages of the sexual cycle. Acta Endoc. 48: 493-506 (1964).
20. Lorenzana, P.J.: Variabilidad de células cebadas en útero de vaca bajo diversas condiciones hormonales. Tesis de licenciatura. Fac. de Med.Vet.y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1981.
21. Lozano, C.B. y Tolosa, S.J.: Cuantificación de células cebadas y de los eosinófilos en la mucosa del cuello uterino del ganado bovino cebú en diferentes etapas reproductivas. Vet. Mex., 20: 393-395 (1989).
22. Márquez de C.: Probabilidad y Estadística. Mc-Graw-Hill. México, D.F. 1990.
23. Murdoch, A., Buckley, C. and Fox, H.: Hormonal control of the Secretary Immune System of the human uterine cervix. J. Reproduc.Immunol. 4 23-30 (1982).
24. Spaziani, E. and Szego, C.M.: Further evidence for mediation by histamine of estrogenic stimulation of the rat uterus. Endocrinol. 64: 713-723 (1959).

25. Steel, D. and Torrie, H.: *Biostatística: Principios y Procedimientos*. Mc-Graw Hill México, D.F., 1969.
26. Stephen, J. and Galli, M.D.: New concepts about the mast cell. The New Eng. J. of Med. **328:** 257-265 (1993).
27. Tchernitchin, A.: Characterization of the estrogen receptors in the uterine and blood eosinophil leucocytes. Experientia. **32:** 1240-1242 (1976).
28. Tchernitchin, A., and Galand, P.: Some uterine estrogenic responses depend on systemic, not local, estrogen levels. Biol. Reprod. **24:** suppl.1 (1981).
29. Tchernitchin, A.: Eosinophil mediated non-genomic parameters of estrogen stimulation a separate group of responses by an independent mechanism. J. Steroid. Biochem. **19:** 95-100 (1983).
30. Valencia, M.S.: *Fisiología de la Reproducción Porcina*, Trillas, México, D.F., 1966.