



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN

DISTRIBUCIÓN DE CÉLULAS PLASMÁTICAS EN TEJIDO
PULMONAR EN CERDOS DE DESTETE CLÍNICAMENTE SANOS.

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA:

CLAUDIA DENISSE LUNA LLORENTE

ASESOR:

DR. TONATIUH ALEJANDRO CRÚZ SÁNCHEZ

COASESOR:

M. EN F. GERMÁN ISAURO GARRIDO FARIÑA

CUAUTILÁN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO

2012



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 esta 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.

"Muchos de nuestros sueños parecen al principio imposibles, luego pueden parecer improbables, y luego, cuando nos comprometemos firmemente, se vuelven inevitables."

(Christopher Reeve)

"El éxito es la habilidad de ir de fracaso en fracaso sin perder el entusiasmo."

(Winston Churchill)

Siembra un pensamiento y cosecharás un acto;
Siembra un acto; y cosecharás un hábito;
Siembra un hábito y cosecharás un carácter;
Siembra un carácter y cosecharas un destino.
(Charles Reade)

"Iré a cualquier parte, siempre que sea hacia adelante."

(Dr. Livingston)

"Para abrir nuevos caminos, hay que inventar; experimentar; crecer, correr riesgos, romper las reglas, equivocarse... y divertirse."

(Mary Lou Cook)

En lugar de ser un hombre de éxito, busca ser un hombre valioso: lo demás llegará naturalmente.

(Albert Einstein)

DEDICATORIAS

MAMI

Gracias por estar conmigo, apoyarme, escucharme, cuidarme y siempre velar por nosotros por convertirte en esa mujer de familia a la cual admiro, por estar presente a lo largo de todo este tiempo por ayudarme a culminar mi sueño nuestro sueño por creer en mí y aunque no lo creas también agradezco tus regaños el que me inculcaras valores a tu modo por todo esto muchas gracias Mami te quiero muchísimo. "No se nace mujer: se llega a serlo gracias mami.

PAPI

Por impulsarme a ser mejor persona a lo mejor no de la mejor manera, gracias por formarme ese carácter por estar presente, por tu cariño, por todo tu amor. "Un buen padre vale por cien maestros." Gracias papi

NEGRO

Por ser la persona que más me hace enojar en este mundo y con la que siempre peleo gracias por darme tu cariño y tu compañía por ser más que un hermano también formaste parte de este sueño que hoy veo culminado gracias negrito te quiero muchísimo aunque no lo demuestre.

DANIEL

Por ser una de las personas que creíste en mí porque me animaste y nunca me dejaste sola por escucharme en esos momentos cuando ya quería abandonar todo gracias por tu valiosísimo apoyo y comprensión gracias por aguantarme y siempre estar con un beso una sonrisa y un te quiero gracias por formar parte de mi vida, por convertirte en más que un amigo por ser mi angelote. Te amo no por quien eres sino por quien soy cuando estoy contigo.....

AMIGUIS

Fuiste parte muy importante de esto gracias por estar conmigo, este camino se vea difícil pero con tu apoyo se me hizo más fácil gracias por tus consejos, por todo tu apoyo de verdad fuiste una pieza clave en esto que hoy termino te quiero mucho amiguis.

ABITA AMADITA

Gracias por todos tus consejitos, por ser la abue consentidora, gracias por todo tu cariño, por tu confianza y por tu inmenso amor te adoro muchísimo siempre serás mi ejemplo.

ABUE MARGARITA

Gracias por todo tu apoyo me ayudaste sobrellevar estos cinco años gracias por enseñarme a ser una lunita te quiero mucho abue.

TIA LUPITA Y TIO MANUEL

Gracia por su apoyo y su confianza nunca se las defraude ni lo hare.

JUDITH ARMENGOL

Gracias por el apoyo que me ofreció por abrirme las puertas de su casa por aconsejarme escucharme, y darme su confianza muchas gracias.

BONY

Gracias por la amistad y el apoyo que me diste pasamos muchas cosas juntas que me hicieron crecer como persona como mujer gracias por soportar mis ataques de locura mi mal humor gracias por escucharme siempre que lo necesite, a pesar de que en ocasiones yo no lo hice contigo gracias, por darme tus regaños y ser más que una amiga te quiero bony.

TIA LETI

A pesar de todo gracias por ese apoyo que me diste

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor Doctor Tonatiuh Alejandro Cruz Sánchez gracias por todo su apoyo por creer en mí y brindarme la oportunidad de trabajar con usted.

M. en F. Germán Isauro Garrido Fariña gracias por todo su tiempo, apoyo, dedicación y consejos.

A la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán por ser mi casa.

ÍNDICE

Resumen.....	1
1. Introducción.....	2
1.1. Historia.....	3
1.2. El sistema inmunitario.....	3
1.3. Anticuerpos.	3
1.4. Células del sistema inmunitario.....	4
1.5. Inmunidad innata.....	5
1.6. Inmunidad adaptativa.....	5
1.7. Inmunidad humoral.....	6
1.8. Inmunidad celular.....	6
1.9. Órganos linfoides.....	6
1.10. Inmunidad de las mucosas.....	7
1.11. Linfocitos.....	8
1.12. Clases de linfocitos.....	8
1.13. Desarrollo de los linfocitos.....	9
1.14. Linfocitos T.....	10
1.15. Marcadores de superficie de los linfocitos T.....	10
1.16. Linfocitos B.....	10
1.17. Marcadores de superficie de los linfocitos.....	11
1.18. Diferenciación en células efectoras.....	11
1.19. Células plasmáticas.....	11

2. Objetivos.....	13
2.1. Objetivo general.....	13
2.2. Objetivos particulares.....	13
3. Metodología.....	14
3.1. Material biológico.....	15
3.2. Tinción Hematoxilina –Eosina.....	18
3.3. Tinción verde metil pironina.....	20
3.4. Fundamento Tinción verde metil pironina	19
3.5. Observación de cortes histologicos.....	21
3.6. Cuantificación de células plasmáticas.....	21
3.7. Estadístico.....	21
4. Resultados.....	22
4.1. Descripción histológica.....	22
4.2. Cuantificación de células plasmáticas.....	22
4.3. Distribución de células plasmáticas.	28
5. Discusión.....	32
6. Conclusiones.....	36
7. Referencias Bibliográficas	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diseño experimental	14
Figura 2. Plantigrafía de los cortes histológicos.....	16
Figura 3. Grafica Distribución de células plasmáticas en tejido pulmonar en cerdos de destete.....	28
Figura 4. Corte histológico de tonsila tinción Hematoxilina – Eosina, (40x) de cerdo destetado.....	29
Figura 5. Corte histológico de tonsila tinción verde metil pironina, (40x) de cerdo destetado	29
Figura 6. Corte histológico de parénquima Pulmonar tinción Hematoxilina – Eosina (40x) de cerdo destetado	30
Figura 7. Corte histológico de parénquima Pulmonar tinción verde metil pironina (40x) de cerdo destetado	30
Figura 8 . Corte histológico de parénquima Pulmonar tinción verde metil pironina (100x) de cerdo destetado.....	30
Figura 9. Gráfica de distribución de células plasmáticas en tejido pulmonar de cerdos recién nacidos.....	34
Figura 10. Gráfica de distribución de células plasmáticas en tejido pulmonar de cerdos en destete.....	34
Figura 9. Gráfica de distribución de células plasmáticas en tejido pulmonar de cerdos recién nacidos.....	35

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Regiones de obtención de las muestras	16
---	----

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I Conteo de células plasmáticas por regiones y por campos cerdo 1	23
Tabla II Conteo de células plasmáticas por regiones y por campos cerdo 2	24
Tabla III Conteo de células plasmáticas por regiones y por campos cerdo 3	25
Tabla IV Conteo de células plasmáticas por regiones y por campos cerdo 4	26
Tabla V Promedio de células plasmáticas de los 4 cerdos.....	27

RESUMEN

En el presente trabajo se observó la histología normal de regiones pulmonares (craneales derecha e izquierda, caudales derecha e izquierda, y una del lóbulo accesorio, tonsila y linfonodo traqueobronquial) de 4 cerdos en destete los cuales se sacrificaron a un peso de 10Kg dichos animales fueron clínica y serológicamente negativos a *Mycoplasma hyopneumoniae*, PRRS, Aujeszky y *Actinobacillus pleuropneumoniae*, esto se realizó con la finalidad de conocer la cantidad y distribución de células plasmáticas (CP).

Para realizar este trabajo se contaron con 10 regiones, por cada una de ellas se procesaron 2 laminillas, por lo se obtuvieron 80 laminillas las cuales se procesaron por el método de inclusión en parafina de rutina, posteriormente 40 laminillas fueron teñidas con H.E para observar la histología normal y 40 se teñieron con verde metil pironina (VMP) para poder evidenciar y cuantificar la presencia de (CP).

Las células plasmáticas se encontraron en cantidades escasas, en la mayoría de las regiones estudiadas, para dicho conteo se tomaron en cuenta 10 campos los cuales se seleccionaron de manera aleatoria los promedios obtenidos de los 4 cerdos se trabajaron en el programa Excel y posteriormente se analizaron por medio del programa estadístico Graph Pad Prisma mediante de la prueba de ANNOVA.

Las regiones donde se observaron la mayor presencia de células plasmáticas estadísticamente significativas fue en tonsila con un promedio de (1.425), linfonodo (0.57) y pulmón izquierdo lóbulo caudal parte central (0.55),

En base a los resultados obtenidos y mediante la comparación con datos previos de cerdos recién nacidos y adultos se observa un marcada disminución en la cantidad de células plasmáticas de los cerdos destetados lo que podría indicar que son más susceptibles a trastornos respiratorios ya que el destete es un evento crítico de estrés que los hace vulnerables a procesos patológicos confirmando que esta etapa causa un efecto inmunodepresivo que favorece la presentación de enfermedades respiratorias.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Historia

Las células conocidas actualmente como células plasmáticas se describieron por primera vez en 1880 por Santiago Ramón Cajal, de la Universidad de Barcelona en España que les designó el nombre de cianofilas y fue el primero en postular que su origen era linfocitario. (Soyano 2003, Anaya 2002)

En 1891 estas células fueron descritas por Paul Gerson Unna (Anaya 2002).

En 1895 Marschalko describió que la apariencia típica del núcleo era el de una rueda de carreta "Radkern", de Pappenheim. (Soyano 2003)

En 1941, Albert H. Coons por medio de la técnica de inmunofluorescencia pudo demostrar que el citoplasma de las células plasmáticas era rico en anticuerpos específicos en contra de un antígeno determinado. (Soyano 2003)

1957 G. J. V. Nossal presenta pruebas definitivas donde demuestra que las células plasmáticas son productoras de anticuerpos. (Soyano 2003, Anaya 2002)

Fragaeus demostró que las células plasmáticas presentaban un alto contenido citoplasmático de ribonucleótidos, una característica típica de las células que sintetizan proteínas. (Soyano 2003)

1.2. EL SISTEMA INMUNITARIO

La función fisiológica del sistema inmunitario es la defensa frente a microorganismos infecciosos, así como sustancias extrañas de naturaleza no infecciosa como proteínas y polisacáridos que también pueden provocar respuestas inmunitarias. (Roitt 2001)

Es capaz de detectar una amplia variedad de agentes, que van desde virus hasta parásitos intestinales, los cuales necesita distinguir de las propias células y tejidos sanos del organismo para funcionar correctamente. (Parslow, 2002)

El sistema inmunitario se encuentra compuesto por linfocitos, leucocitos, anticuerpos, células T, citoquinas, macrófagos, neutrófilos, entre otros componentes que ayudan a su funcionamiento. La detección es complicada ya que los patógenos pueden evolucionar rápidamente, produciendo adaptaciones que evitan el sistema inmunitario y permiten a los patógenos infectar con éxito a sus huéspedes. (Roitt 2001)

El sistema inmunitario tiene componentes principales dentro de los cuales se encuentran células capaces de atrapar y transformar al antígeno, de manera que pueda ser reconocido de forma eficaz, así como células capaces de producir anticuerpos. (Abbas 2004)

1.3. ANTICUERPOS

Los anticuerpos son glicoproteínas del tipo gamma globulina que son empleados por el sistema inmunitario para identificar y neutralizar elementos extraños tales como bacterias, virus o parásitos. Los anticuerpos son sintetizados por un tipo de leucocito denominado linfocito B en dos formas, unida a la membrana y secretada, los anticuerpos unidos a la membrana actúan como receptores que median la activación de las células B desencadenadas por los antígenos. (Parslow, 2002)

Los anticuerpos secretados actúan como mediadores de la inmunidad humoral específicamente mediando ciertos mecanismos efectores moleculares y celulares para eliminar a los antígenos unidos, se conocen cinco clases diferentes de isotipos que desempeñan funciones diferentes, contribuyendo a dirigir la respuesta inmune adecuada para cada distinto tipo de cuerpo extraño que encuentra. (Abbas 2004)

El reconocimiento de un antígeno por un anticuerpo lo marca para ser atacado por otras partes del sistema inmunitario. Los anticuerpos también pueden neutralizar sus objetivos directamente, mediante, la unión a una porción de un patógeno necesaria para que éste provoque una infección. Los anticuerpos son producidos por los linfocitos B. (Roitt 2001)

Las funciones efectoras mediadas por anticuerpos consisten en la neutralización de los microorganismos o los productos microbianos tóxicos, la activación del sistema del complemento, la opsonización de los antígenos para potenciar la fagocitosis, la citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos, mediante la cual los anticuerpos identifican microorganismos para su posterior lisis por las células del sistema inmunitario innato. (Abbas 2004)

Los anticuerpos siempre inician sus efectos biológicos uniéndose a antígenos. Un antígeno es cualquier sustancia a la que se une específicamente una molécula de anticuerpo o un receptor de la célula T. (Roitt 2001)

Los anticuerpos son producidos por los linfocitos B y las células plasmáticas en los órganos linfáticos y la médula ósea, pero realizan sus funciones efectoras en zonas lejanas a las de su síntesis. Los anticuerpos se encuentran en las secreciones mucosas, donde participan en la defensa frente a los microorganismos ingeridos o inhalados, y en la sangre, desde la que son capaces de circular a cualquier lugar donde exista un antígeno. (Cruse 2004)

La defensa frente a los microorganismos está mediada por las reacciones tempranas de la inmunidad innata y las respuestas tardías de la inmunidad tardía. (Abbas 2004)

1.4. CÉLULAS SISTEMA INMUNITARIO.

Las células del sistema inmunitario se van a formar a partir de células madres pluripotenciales, mediante dos principales vías de diferenciación, la primera de la estirpe linfóide la que da lugar a los linfocitos y la segunda es de la estirpe mieloide que da lugar a los fagocitos como los monocitos, macrófagos, granulocitos (eosinófilos, neutrófilos y basófilos) y células dendríticas. (Roitt 2001, Sánchez 2004)

Las células que intervienen en las respuestas inmunitarias adaptativas son los linfocitos específicos las células presentadoras de antígenos (CPA) dentro de las cuales se encuentran las células dendríticas, macrófagos, células B, células endoteliales, las cuales son especializadas ya que exhiben los antígenos y activan los linfocitos y las células efectoras, cuya función es la eliminación de los antígenos. (Abbas 2004)

La organización anatómica de las células y su capacidad para circular e intercambiarse entre sangre, linfa y los tejidos es muy importante para generar respuestas protectoras eficaces contra los microorganismos patógenos. Lo primero que debe hacer el sistema inmunitario es ser capaz de reconocer y responder a pequeñas cantidades de un número de microorganismos diferentes que pueden penetrar en el cuerpo, después

Tienen que ubicar y destruir los microorganismos en zonas distantes a la localización inicial de la infección. La capacidad del sistema inmunitario a enfrentarse a estos problemas y de llevar a cabo esta función de protección de forma óptima depende de varias características de sus células y tejidos. (Abbas 2004 Halliwell 1992)

1.5. INMUNIDAD INNATA

La inmunidad innata también denominada inmunidad natural está constituida por mecanismos existentes antes de que se desarrolle la infección, capaces de establecer respuestas rápidas a los microorganismos y que reaccionan básicamente de la misma manera en infecciones repetidas. (Montaño 2005)

Los componentes principales de la inmunidad innata son: barreras físicas y químicas, tales como epitelio y sustancias antimicrobianas producidas en la superficies epiteliales, también dentro de este tipo de inmunidad se encuentran células fagocíticas como neutrofilos, macrófagos, y células citocidas naturales. Proteínas sanguíneas, entre las que se incluyen miembros del sistema del complemento y otros mediadores de la inflamación y proteínas denominadas citoquinas, que regulan y coordinan muchas de las acciones de las células que interviene en la inmunidad celular. La inmunidad innata representa la primera línea defensiva contra los microorganismos. (Montaño 2005, Montaraz 1997)

1.6. INMUNIDAD ADAPTATIVA

Esta se desarrolla a lo largo del tiempo y retiene memoria y especificidad inmunológica del patógeno, están son sus dos principales además de la especialización, autolimitación y ausencia de auto reactividad. (Abbas 2004, Goldsby) 2000)

Este tipo de inmunidad posee una especificidad extraordinaria para macromoléculas diferentes y su capacidad para recordar y responder con mayor intensidad tras exposiciones repetidas al mismo microorganismo, los componentes de esta inmunidad son los linfocitos y sus productos. (Montaño 2005)

En condiciones normales, las células del sistema inmunitario adaptativo circulan en la sangre y la linfa, forman grupos anatómicamente definidos en los órganos linfáticos y se encuentran diseminados por casi todos los tejidos. (Abbas 2004)

Existe dos tipos de respuestas inmunes adaptativas, denominadas inmunidad humoral e inmunidad celular, que están mediadas por diferentes componentes del sistema inmunitario y cuya función es eliminar distintos tipo de microorganismos. (Cruse 2004)

1.7. INMUNIDAD HUMORAL

En este tipo de inmunidad participan moléculas presentes en la sangre, denominadas anticuerpos, que son producidas por linfocitos B. (Rojas 2001)

La inmunidad humoral es el principal mecanismo de defensa frente a los microorganismos extracelulares y sus toxinas debido a que los anticuerpos secretados pueden unirse a estos microorganismos y toxinas para facilitar su eliminación. (Cruse 2004)

La primera fase de la inmunidad humoral es el reconocimiento de antígenos extraños dentro del organismo por células B a través de su receptor. (Abbas 2004)

1.8. INMUNIDAD CELULAR

También llamada inmunidad mediada por células, participan células llamadas linfocitos T actúa como mecanismo de ataque en contra de los microorganismos intracelulares, como virus y algunas bacterias, capaces de sobrevivir y proliferar en el interior de los fagocitos y otras células del huésped, lugar al que no tienen acceso los anticuerpos circulantes. La defensa frente a este tipo de infecciones depende de la inmunidad celular, que induce la destrucción del microorganismo residentes en los fagocitos o de las células infectadas. (Abbas 2004)

1.9. ÓRGANOS LINFOIDES

Los órganos linfoides se clasifican como primarios y secundarios en función de su participación en los procesos de diferenciación, maduración y especialización de células linfoides. (Rojas 2001)

La función de los tejidos especializados, denominados órganos linfoides periféricos, consiste en concentrar los antígenos que entran en el organismo por las puertas de entrada habituales (piel aparato respiratorio y digestivo). Los primeros pasos en las respuestas inmunitarias adaptativas son la captación de los antígenos y su transporte hacia los órganos linfoides. (Halliwell 1992)

Dentro de los órganos linfoides existen otros mecanismos de control que se hallan en funcionamiento continuo para garantizar que no se desarrollen células autoreactivas de forma inadvertida o que incluso se activen. (Montaño 2005)

Los órganos linfoides, deben suministrar un entorno que le permita la interacción eficiente entre linfocitos, macrófagos y antígeno extraño. (Tizar 2002)

1.10. INMUNIDAD DE LAS MUCOSAS

Las mucosas constituyen la puerta de entrada para muchos agentes patógenos y el lugar de contacto con diferentes antígenos ambientales. Las mucosas son más frágiles al momento de ser atravesadas por los microorganismos sin embargo, están dotadas de un sistema de protección local, ya que en ellas tiene lugar una respuesta inmune con características especiales, respuesta inmune asociada a mucosas. Esta respuesta inmune se desarrolla a partir del tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT), dicho tejido forma parte del sistema inmune, aunque con cierta independencia del sistema sistémico. El (MAL está formado por nódulos del tejido linfoide que según su localización se denominan (GALT) y (BALT) (Abbas 2004, Stites 1193)

La denominación GALT provienen de las palabras inglesas “ Gut Associated Lymphoid Tissues” la traducción al español es tejido linfoide asociado al intestino, el GALT está formado por el tejido linfoide que se encuentra en las paredes intestinales (ganglios, placas de Peyer, folículos, linfoides aislados).(Parslow, 2002, Roth 1999)

La denominación BALT proviene de la palabras inglesas “ Broncus Associated Lymphoid Tissues” al español traducción es tejido linfoide asociado a los bronquios el cual está formado por (tonsilas, ganglios y folículos linfoides). (Parslow, 2002)

Una particularidad del BALT en la especie porcina, es la gran presencia en los pulmones de macrófagos intravasculares que presentan gran actividad. (Tizard 2002)

Los tejidos linfoides asociados a mucosas son los linfocitos intraepiteliales, principalmente células T, y grupos organizados de linfocitos, a menudo ricos en células B bajo el epitelio mucoso como las amígdalas faríngeas. (Tizard 2002)

El tejido linfoide se distribuye estratégicamente en dos zonas, la primera de ellas es la zona inductora esta es la zona de procesamiento e inicio de la repuesta inmune y la zona efectora, en la cual se lleva a cabo la respuesta humoral y celular. (Sánchez 2004)

La función primaria del sistema inmunitario de las mucosas proporciona defensa al individuo en las superficies mucosas, esta función la realiza en conjunto con diversos factores protectores no inmunitarios como la flora bacteriana normal, actividad motriz normal del órgano, secreciones mucosas, movimiento ciliar y factores humorales innatos. Una segunda función del sistema inmunitario de las mucosas es evitar la entrada de

Antígenos por la mucosa a la circulación y proteger así al sistema inmunitario sistémico de exposiciones antigénicas inadecuadas. (Parslow, 2002, Ogra 1999)

La defensa frente a los microorganismos que entran por las mucosas se debe a los anticuerpos, en su mayoría IgA que se sintetizan en los tejidos linfáticos de las mucosas y se secreta a través del epitelio mucoso al interior de la luz de los órganos. (Abbas 2004)

1.11. LINFOCITOS

Los linfocitos son las únicas células del organismo capaces de reconocer y diferenciar específicamente distintos determinantes antigénicos, y por lo tanto son responsables de las dos características que definen al sistema inmunitario adaptativo; la especificidad y la memoria. Los linfocitos se encargan de la producción de anticuerpos y de la destrucción de células anormales. (Montaño 2005).

En etapas tempranas de la vida fetal, las células madres linfoides comienzan a producirse en el peritoneo primitivo y después en el hígado fetal. (Stites 1993)

Los linfocitos no estimulados migran hacia órganos linfáticos periféricos, donde reconocen los antígenos e inician las respuestas inmunitarias. Los linfocitos de memoria y efectores derivan de las células no estimuladas por los antígenos. Los linfocitos están formados por diferentes subtipos que difieren en sus funciones y productos proteicos, aunque morfológicamente son indistinguibles. (Parslow 2002)

Los linfocitos efectores y de memoria circulan por la sangre, se dirigen a las zonas periféricas de entrada a los antígenos y son retenidos de forma eficaz en estas localizaciones, esto garantiza que la inmunidad sea sistémica. (Abbas 2004)

Todos los linfocitos sufren dos cambios primordiales como respuesta a los antígenos, al inicio proliferan, lo cual provoca expansión de clones específicos de linfocitos y la amplificación de la respuesta protectora. Después de la progenie de linfocitos estimulados por el antígeno se diferencia bien en células efectoras que eliminan el antígeno, o en células de memoria que recirculan preparadas para responder a una nueva exposición a este. Algunos linfocitos de la progenie estimulada por el antígeno mueren y se pierden a partir del reservorio de respuesta. Los linfocitos no estimulados que no se encuentran con el antígeno mueren en consecuencia, la población se mantiene a un nivel estable por medio del desarrollo de células nuevas a partir de precursores en la médula ósea. (Montaño, 2005, Roitt 1998)

Los linfocitos no estimulados, previamente por antígenos, reciben el nombre de linfocitos pequeños, el diámetro de un linfocito pequeño es de 8 a 10µm, tiene un núcleo grande

Con heterocromatina densa y rodeada de un delgado borde de citoplasma que contiene pocas mitocondrias, ribosomas, lisosomas y carece de organelos especializados. (Boersma 2001, Bamer 2002)

1.12. CLASES DE LINFOCITOS

Existen diferentes subgrupos de linfocitos que se diferencian por las funciones que desempeñan y por sus productos proteicos, pero son indistinguibles desde el punto de vista morfológico. Dentro de esta clase se encuentran los linfocitos B que son productores de anticuerpos en la inmunidad humoral, los linfocitos T colaboradores, los linfocitos T citolíticos y las células citocidas naturales. (Abbas 2004)

1.13. DESARROLLO DE LOS LINFOCITOS

Los linfocitos se originan a partir de las células madre de la médula ósea. Todos los linfocitos pasan por complejos estadios de maduración durante los cuales expresan receptores para el antígeno y adquieren las características funcionales y fenotípicas de las células maduras. (Montaño, 2005)

Los linfocitos B alcanzan la plena madurez en la médula ósea mientras que los linfocitos T migran al timo, donde maduran una vez que las células han madurado, abandonan la médula o el timo, penetran en la circulación y se distribuyen por los órganos linfoides periféricos. (Abbas 2004)

Antes de la estimulación antigénica, los linfocitos pequeños se encuentran en estado de reposo, o estadio G₀ del ciclo celular, como respuesta a la estimulación, los linfocitos pequeños entran en el estadio G₁ del ciclo celular, reciben entonces el nombre de linfocitos grande o linfoblastos ya que aumentan su tamaño (10 a 12 μm de diámetro), aumentan el volumen de citoplasma y de ARN citoplasmático y número de organelos. (Abbas 2004)

Los linfocitos estimulados pueden desarrollar sus funciones durante breves periodos de tiempo, después de la estimulación y luego morir o diferenciarse a células de memoria funcionalmente activas. (Cruse 2004)

1.14. LINFOCITOS T

Estos linfocitos deben su nombre al hecho de que sus precursores se originan en la médula ósea, pero después migran al timo donde maduran, de forma que el término linfocito T designa aquellos linfocitos que derivan del timo. Los linfocitos T se dividen en dos subpoblaciones, los linfocitos T colaboradores y los linfocitos T citolíticos o citotóxicos. (Parslow 2002)

Los linfocitos T son los responsables de coordinar la respuesta inmune celular constituyendo el 70% del total de los linfocitos que segregan proteínas o citoquinas, también se ocupan de realizar la cooperación para desarrollar todas las formas de respuestas inmunes, como la producción de anticuerpos por los linfocitos B. (Abbas.2004)

1.15. MARCADORES DE SUPERFICIE DE LOS LINFOCITOS T

Todas las células T tienen moléculas TCR (T cell receptor). Que es el receptor que reconoce los complejos péptido-moléculas del MCH. La molécula CD3 es un complejo pentamolecular asociado al TCR y relacionado con la transducción de señales. Otros marcadores son; CD2, CD4, CD8, CD25, CD45, cada uno desempeña una función diferente. (Bullido 1999,

1.16. LINFOCITOS B

Los linfocitos B son células productoras de anticuerpos, por tanto mediadores de la inmunidad humoral. (Montaño 2005)

Se observa células B en la corteza de los nodos linfáticos, en la zona marginal del bazo, en la médula ósea y en las placas de Peyer del intestino, solo unas cuantas circulan en sangre. Cada célula B lleva una gran cantidad de receptores idénticos de antígenos; por esta razón, una célula B sólo podrá unirse y responder a un solo epitopo, estos receptores se generan en forma aleatoria durante el desarrollo de la célula B, mediante un proceso. Cada célula B se encuentra cubierta por 200 000 a 500 000 receptores de antígenos. (Abbas 2004)

Las células B tiene como función responder al antígeno creando anticuerpos y además actuar simultáneamente como procesadoras de antígeno. (Goldsby 2000)

1.17. MARCADORES DE SUPERFICIE DE LINFOCITOS B

Los linfocitos B exhiben moléculas o antígenos de diferenciación, algunos de estos antígenos son el CD34, CD10, CD40 CD1, y CD21. (Stites, 1993), (Roitt, 2001), (Boersma, 2001)

Los linfocitos B tienen en su membrana celular receptores para C3b, uno de los componentes del sistema del complemento. (Rojas, 2001)

1.18. DIFERENCIACION EN CELULAS EFECTORAS

Parte de la progenie de los linfocitos estimulados por antígeno se diferencian en células efectoras, cuya función es eliminar al antígeno. Los linfocitos efectoras incluyen los linfocitos T cooperadores, los LTC, y los linfocitos B productores de anticuerpos. (Abbas 2004)

Los linfocitos B se diferencian en células que sintetizan y secretan anticuerpos de forma activa. Algunas de estas células productoras de anticuerpos son identificables como células plasmáticas. (Montaraz 1997)

1.19. CELULAS PLASMATICAS

Las células plasmáticas se originan por la respuesta de los linfocitos B al antígeno, se encuentran distribuidas por todo el cuerpo pero se localizan en mayor cantidad en bazo, médula de los linfonodos y médula ósea. (Roitt 2001)

Las células de morfología intermedia entre linfocitos y células plasmáticas (plasmoblastos) es común encontrarlas en el margen que existe entre la corteza del nodo linfático y la paracorteza, en la zona del manto del bazo. Las células plasmáticas diferenciadas migran de estas regiones, y se les puede encontrar distribuida en todo el cuerpo. (Tizard 2002)

Las células plasmáticas son ovoides y tienen de 8 a 9 μm de diámetro, poseen un núcleo excéntrico redondo, con una distribución desigual de la cromatina, poseen abundante citoplasma rico en retículo endoplasmico rugoso, que se tiñe con los colorantes básicos y la tirosina, así como un aparato de golgi grande que se tiñe de color pálido. Las células plasmáticas sintetizan hasta un millón de moléculas de inmunoglobulinas por hora, y son secretadas poco después de que se da el encuentro con el antígeno la Inmunoglobulina producida por una célula plasmática es de especificidad idéntica al BCR (receptor de la célula) original al de la célula B progenitora, la pérdida de estas células no causa un descenso inmediato de la concentración sérica de anticuerpos

debido a que, una vez secretadas, la concentración de inmunoglobulinas disminuye lentamente a través del catabolismo. (Parslow, 2002 Tizard, 2002)

Se desarrollan en los órganos linfoides y en sitios de respuestas inmunitarios, y con frecuencia migran a la médula ósea donde algunas de ellas pueden sobrevivir durante largos periodos de tiempo una vez inducida la respuesta inmune incluso una vez eliminado el antígeno. (Abbas 2004)

En tanto que las células plasmáticas que permanecen en el tejido linfóide producen anticuerpos durante casi una semana para finalmente morir mediante un proceso de apoptosis por lo que no se encuentran células plasmáticas circulantes. (Roitt 2001, Parslow, 2002,)

Las células plasmáticas tienen un núcleo característico, un citoplasma abundante con un retículo endoplásmico rugoso denso donde se sintetizan los anticuerpos (y otras proteínas de membrana y secretadas) y unos complejos de golgi perinucleares bien definidos en los que las moléculas de anticuerpos se convierten en sus formas finales y son empaquetados para su secreción. Se calcula que la mitad o más del ARN mensajero de estas células codifican proteínas de anticuerpos. (Abbas 2004)

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General.

Cuantificar la cantidad de células plasmáticas en lóbulos pulmonares de cerdos en destete clínicamente sanos mediante la tinción de verde metil pironina.

2.2 Objetivos Particulares.

Observar la histología normal de cinco regiones pulmonares (dos craneales derecha e izquierda, dos caudales derecha e izquierda, y una del lóbulo accesorio) mediante la tinción de Hematoxilina – Eosina.

Determinar la distribución y la cuantificación normal de células plasmáticas en cinco regiones pulmonares: dos craneales derecha e izquierda, dos caudales derecha e izquierda, y una del lóbulo accesorio) mediante la tinción de verde metil pironina.

3. METODOLOGÍA

Diseño experimental.

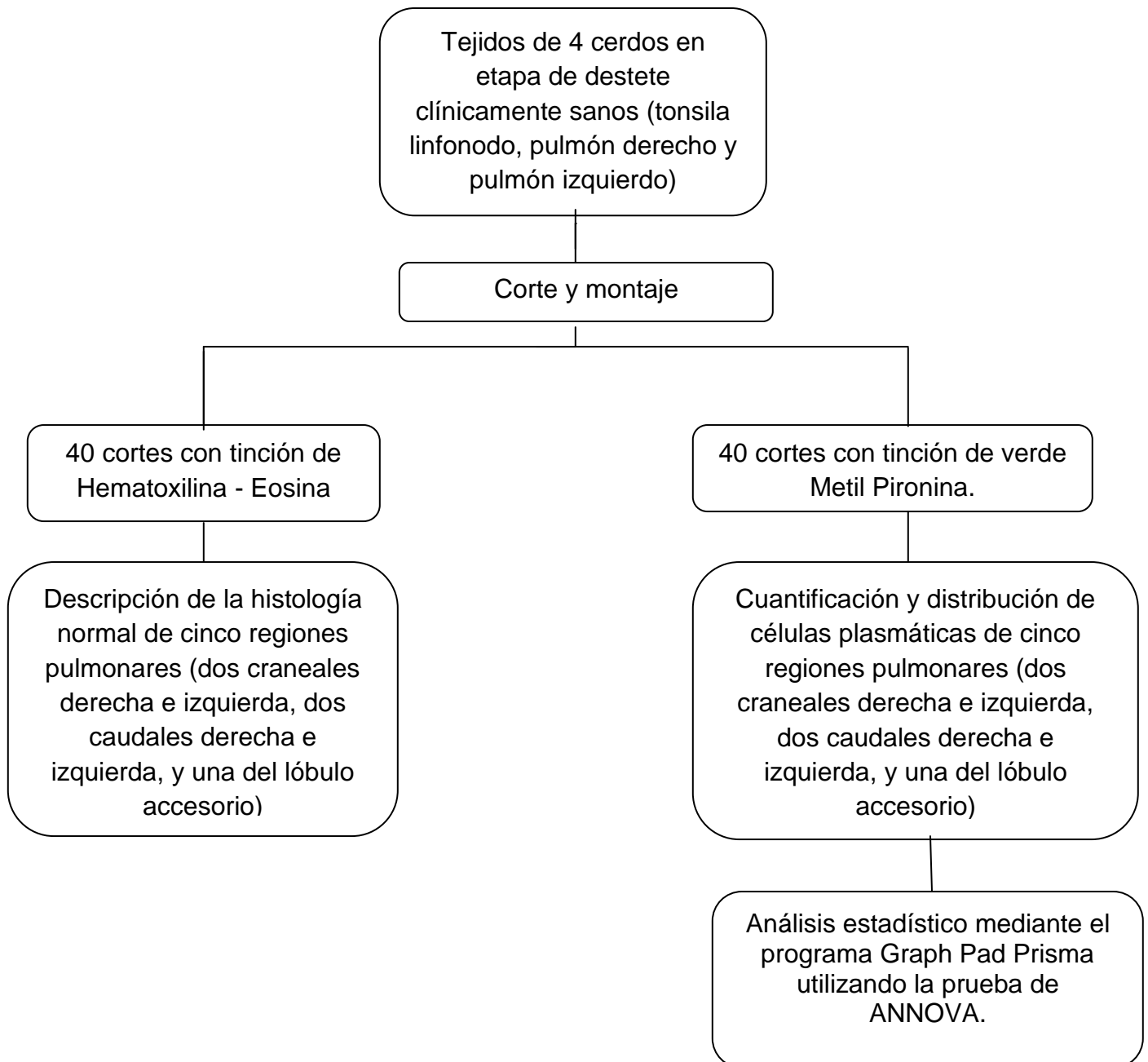


Figura 1

3. METODOLOGÍA

Se realizaron cortes en un micrótopo (Leyca RM280) a un grosor de 5µm, posteriormente se montaron los diferentes cortes en portaobjetos de vidrio y se prosiguió a realizar la tinción correspondiente (tinción de Hematoxilina – Eosina). Esto se realizo con la finalidad de observar la morfología normal.

Se realizaron cortes con el mismo micrótopo al mismo grosor, posteriormente se montaron los diferentes cortes y realizo la tinción de verde metil pironina para observar la cantidad y distribución de células plasmáticas.

3.1 MATERIAL BIOLÓGICO

Se utilizaron cortes histológicos de regiones pulmonares, linfonodo y tonsila de 4 cerdos en etapa de destete con un peso de 10 Kg los cuales fueron serológicamente libres de *Mycoplasma, hyopneumoniae*, PRRS, Aujeszky y *Actinobacillus pleuroneumoniae*.

SITIOS DE OBTENCION DE LAS MUESTRAS

Plantigrafía de los Cortes Histológicos

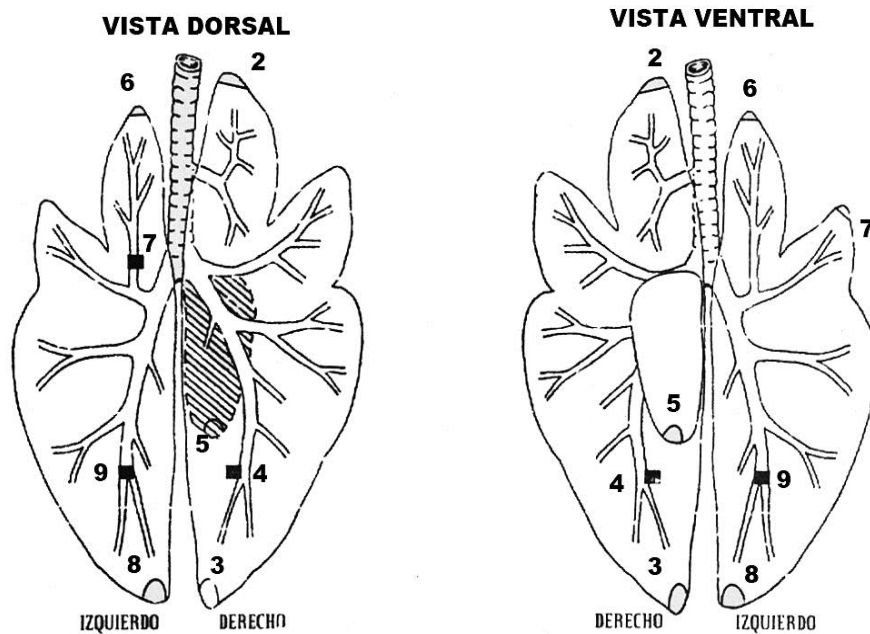


Figura 2.

SITIOS DE OBTENCION DE LAS MUESTRAS

Numero	Región
I	Tonsila
II	Pulmón derecho lóbulo craneal ápice.
III	Pulmón derecho lóbulo caudal extremo caudal del borde dorsal.
IV	Pulmón derecho lóbulo caudal parte central.
V	Pulmón derecho lóbulo accesorio borde agudo parte media.
VI	Pulmón izquierdo lóbulo craneal ápice.

VII	Pulmón izquierdo lóbulo craneal parte caudal del borde dorsal.
VIII	Pulmón izquierdo lóbulo caudal extremo caudal del borde dorsal.
IX	Pulmón izquierdo lóbulo caudal parte central.
X	Linfonodo traqueobronquial.

Cuadro 1 Regiones de obtención de las muestras.

En esta parte se trabajo en el laboratorio de apoyo histología bajo la supervisión de M. en F. Germán Isauro Garrido Fariña.

3.2. TINCIÓN HEMATOXILINA – EOSINA

Se desparafinaron las muestras en xileno por 5 minutos en dos pasos cada uno

Rehidratación de la muestra:

Alcohol etílico 100% I 5 minutos.

Alcohol etílico 100% II 5 minutos.

Alcohol etílico 96% I 5 minutos.

Alcohol etílico 96% II 5 minutos.

Alcohol etílico 80% 5 minutos.

Alcohol etílico 70% 5 minutos.

Lavado en agua destilada durante 5 minutos.

Teñido con Hematoxilina de Harris durante 10 minutos.

Lavado con agua corriente.

Decolorado con alcohol ácido.

Lavado con agua corriente.

Estabilización en carbonato de litio.

Lavado con agua corriente.

Lavado con agua destilada durante 5 minutos.

Teñido con eosina acuosa durante 5 minutos.

Lavado con agua corriente para quitar el excedente de colorante.

Deshidratación en alcohol etílico al 96% I.

Deshidratación en alcohol etílico al 96% II.

Deshidratación en alcohol etílico al 100% I

Deshidratación en alcohol etílico al 100% II

Aclarado con xileno en dos pasos.

Montaje permanente con resina sintética.

(Garrido, y col. 2003)

3.3. TINCIÓN VERDE METIL PIRONINA.

PROCEDIMIENTO

Preparación de verde metil pironina

Verde metilo	0.15g
Pironina B	0.25g
ROH 96	2.5 ml
Fenol	0.5g
Glicerina	20ml
Agua destilada	c.b.p 100 ml

Desparafinado e hidratado de acuerdo a la técnica que ya se menciona.

Teñido con verde metil pironina durante 5 minutos.

Lavado con agua corriente.

Decoloración con acetona.

Deshidratación en alcohol absoluto en dos pasos.

Aclarado con xileno en dos pasos.

Montado con resina sintética.

(Garrido, y col. 2003)

3.4. FUNDAMENTO TINCIÓN VERDE METIL PIRONINA

Esta técnica es específica para el RNA y el DNA aunque la razón química no se entiende. Esta técnica demostró los ácidos nucleicos, y fue publicado por primera vez por Pappenheim (1899), y más tarde modificado por Unna (1902), desde entonces se han realizado considerables modificaciones de la técnica original. (Cuando se usa en un pH ligeramente ácido) parece ser específica para ADN. (Bancroft, 1990)

La tinción verde metil pironina es un excelente colorante para teñir la cromatina, es utilizada con frecuencia para estudios cuantitativos. (Geneser 2000)

Esta tinción tiene dos componentes básicos el verde metilo y la pironina el primero de ellos es el trimetilmetano y el segundo es un xanteno las afinidades varían dependiendo del tejido y el pH. (Bancroft, 1990)

Para fines prácticos se dice que en condiciones estandarizadas el verde metilo es un colorante selectivo del DNA polimerizado. (Kiernan 1999)

La Pironina posee un leve carácter catiónico, una alta afinidad a zonas menos polimerizadas y una estructura planar que se intercala entre los pares de bases de los ácidos nucleicos y no logra entrar al DNA porque sus iones son excluidos por el Verde de Metilo en el lado externo de la cadena, por lo que, se une al RNA que al ser una estructura más abierta, admite fácilmente los cationes de la Pironina los cuales se intercalan firmemente entre los pares de bases, neutralizan los fosfatos y excluyen al Verde de Metilo que no se puede intercalar. (Kiernan 1999, Gazquez 2004)

Los resultados son una tinción de cromatina (DNA) azul verdoso, nucléolo (RNA) rojo brillante y RNA citoplasmático rojo. (Kiernan 1999)

La tinción de verde metil pironina es muy útil para estudios de histología en trastornos inmunológicos, en el presente trabajo se empleará dicha tinción para evidenciar la presencia de células plasmáticas. (Bancroft, 1990)

3.5. OBSERVACIÓN DE CORTES HISTOLOGICOS

Tanto la observación como la toma de imágenes de los cortes teñidos con H - E y con verde metil pironina se realizaron en un microscopio óptico modelo Leyca DME a 10x, 20x y 40x con cámara modelo Sony Exwave Had en el laboratorio 6 de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán C4.

3.6. CUANTIFICACIÓN DE CÉLULAS PLASMÁTICAS.

Para la determinación de células plasmáticas se realizó el conteo de 10 campos los cuales fueron seleccionados de manera aleatoria. Se cuantificó y se observó la distribución de células plasmáticas.

3.7. ESTADÍSTICO

Posteriormente obtenidos los resultados se creó una base de datos la cual se analizó mediante el programa de cómputo Graph Pad Prisma utilizando la prueba de ANNOVA.

4. RESULTADOS

4.1. Descripción Histológica

En todos los cortes histológicos teñidos con hematoxilina Eosina no se observó cambios patológicos aparentes (SCPA).

4.2. Cuantificación de células plasmáticas

Los resultados del conteo obtenido de las muestras se presentan en las siguientes tablas donde se reporta el conteo de cada cerdo y de cada región.

TEJIDOS Y REGIONES ANALIZADAS

Las regiones analizadas se muestran en los siguientes cuadros.

Tabla I Conteo de células plasmáticas por regiones y por campos cerdo 1

Región	Campo 1	Campo 2	Campo 3	Campo 4	Campo 5	Campo 6	Campo 7	Campo 8	Campo 9	Campo 10
II	1	2	5	0	2	1	2	3	2	0
II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
III	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
IV	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
V	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
VI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VII	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
VIII	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
IX	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
X	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0

I: Tonsila del paladar blando. **II:** Pulmón derecho lóbulo craneal ápice. **III:** Pulmón derecho lóbulo caudal extremo caudal del borde dorsal. **II:** Pulmón derecho lóbulo caudal parte central. **V:** Pulmón derecho lóbulo accesorio borde agudo parte media. **VI:** Pulmón izquierdo lóbulo craneal ápice. **VII:** Pulmón izquierdo lóbulo craneal parte caudal parte media del borde dorsal. **VIII:** Pulmón izquierdo lóbulo caudal extremo caudal del borde dorsal. **IX:** Pulmón izquierdo lóbulo caudal parte central. **X:** Linfonodo traqueal.

Tabla II Conteo de células plasmáticas por regiones y por campos cerdo 2

Región	Campo 1	Campo 2	Campo 3	Campo 4	Campo 5	Campo 6	Campo 7	Campo 8	Campo 9	Campo 10
I	0	5	3	2	2	0	0	0	2	2
II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
III	0	0	0	1	0	1	0	1	0	2
IV	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
V	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0
VI	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0
VII	1	0	2	2	2	0	0	0	0	0
VIII	0	0	2	1	0	0	1	0	1	2
IX	1	1	0	1	1	0	1	0	3	3
X	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0

I: Tonsila del paladar blando. **II:** Pulmón derecho lóbulo craneal ápice. **III:** Pulmón derecho lóbulo caudal extremo caudal del borde dorsal. **II:** Pulmón derecho lóbulo caudal parte central. **V:** Pulmón derecho lóbulo accesorio borde agudo parte media. **VI:** Pulmón izquierdo lóbulo craneal ápice. **VII:** Pulmón izquierdo lóbulo craneal parte caudal parte media del borde dorsal. **VIII:** Pulmón izquierdo lóbulo caudal extremo caudal del borde dorsal. **IX:** Pulmón izquierdo lóbulo caudal parte central. **X:** Linfonodo traqueal.

Tabla III Conteo de células plasmáticas por regiones y por campos cerdo

Región	Campo 1	Campo 2	Campo 3	Campo 4	Campo 5	Campo 6	Campo 7	Campo 8	Campo 9	Campo 10
I	0	3	0	1	3	5	2	1	1	0
II	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
III	0	1	0	0	0	2	1	0	1	0
IV	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
V	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
VI	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
VII	2	0	0	0	1	0	1	1	1	1
VIII	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
IX	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
X	0	2	0	1	0	0	1	0	0	0

I: Tonsila del paladar blando. **II:** Pulmón derecho lóbulo craneal ápice. **III:** Pulmón derecho lóbulo caudal extremo caudal del borde dorsal. **II:** Pulmón derecho lóbulo caudal parte central. **V:** Pulmón derecho lóbulo accesorio borde agudo parte media. **VI:** Pulmón izquierdo lóbulo craneal ápice. **VII:** Pulmón izquierdo lóbulo craneal parte caudal parte media del borde dorsal. **VIII:** Pulmón izquierdo lóbulo caudal extremo caudal del borde dorsal. **IX:** Pulmón izquierdo lóbulo caudal parte central. **X:** Linfonodo traqueal.

Tabla IV Conteo de células plasmáticas por regiones y por campos cerdo 4

Región	Campo 1	Campo 2	Campo 3	Campo 4	Campo 5	Campo 6	Campo 7	Campo 8	Campo 9	Campo 10
I	0	0	2	1	1	0	1	0	0	0
II	3	1	3	1	0	1	0	0	0	1
III	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
IV	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0
V	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
VI	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
VII	1	0	0	1	2	0	1	0	1	0
VIII	1	2	1	1	0	0	0	1	0	1
IX	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0
X	2	0	0	1	0	0	0	0	0	1

I: Tonsila del paladar blando. **II:** Pulmón derecho lóbulo craneal ápice. **III:** Pulmón derecho lóbulo caudal extremo caudal del borde dorsal. **II:** Pulmón derecho lóbulo caudal parte central. **V:** Pulmón derecho lóbulo accesorio borde agudo parte media. **VI:** Pulmón izquierdo lóbulo craneal ápice. **VII:** Pulmón izquierdo lóbulo craneal parte caudal parte media del borde dorsal. **VIII:** Pulmón izquierdo lóbulo caudal extremo caudal del borde dorsal. **IX:** Pulmón izquierdo lóbulo caudal parte central. **X:** Linfonodo traqueal.

Tabla V Promedio de células plasmáticas en cuatro cerdos en destete

región	cerdo 1	cerdo 2	cerdo 3	cerdo 4	promedio general
I	2	1.6	1.6	0.5	1.425
II	0	0.2	0.1	1	0.325
III	0	0.5	0.5	0.1	0.275
IV	0.1	0.3	0.1	0.3	0.2
V	0.1	0.3	0.1	0.3	0.2
VI	0	0.3	0.1	0.1	0.125
VII	0.2	0.7	0.7	0.6	0.55
VIII	0.1	0.7	0	0.7	0.375
IX	0	1.1	0.6	0.4	0.525
X	0.3	0.2	1.4	0.4	0.575

I: Tonsila del paladar blando. **II:** Pulmón derecho lóbulo craneal ápice. **III:** Pulmón derecho lóbulo caudal extremo caudal del borde dorsal. **II:** Pulmón derecho lóbulo caudal parte central. **V:** Pulmón derecho lóbulo accesorio borde agudo parte media. **VI:** Pulmón izquierdo lóbulo craneal ápice. **VII:** Pulmón izquierdo lóbulo craneal parte caudal parte media del borde dorsal. **VIII:** Pulmón izquierdo lóbulo caudal extremo caudal del borde dorsal. **IX:** Pulmón izquierdo lóbulo caudal parte central. **X:** Linfonodo traqueal.

4.3. Distribución de células plasmáticas.

La distribución de las células en los tejidos pulmonares se muestra en la figura 3. Donde se observa la mayor presencia de células plasmáticas estadísticamente significativas en tonsila (1.425), linfonodo (0.57) y Pulmón izquierdo lóbulo caudal parte central (0.55), A si mismo se muestran en las fotografías dichas regiones (Figuras de la 4 a la 9).

Distribución de células plasmáticas en campos y tejidos pulmonares

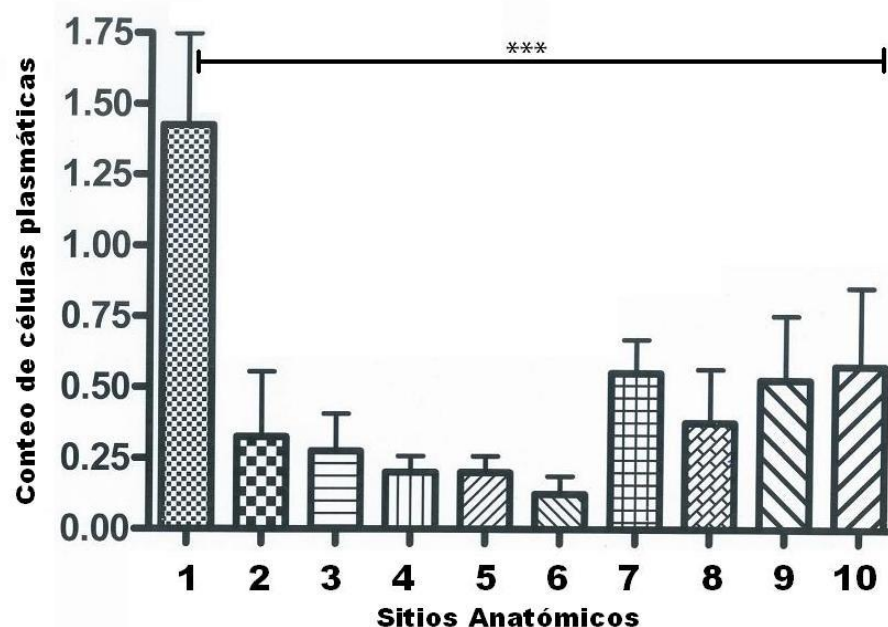


Figura 3. Gráfica distribución de células plasmáticas en tejido pulmonar

Numero de células plasmáticas en diferentes regiones anatómicas en el tracto respiratorio del cerdo recién nacido n= 4. Las barras representan la media y la desviación estándar de células posibles mínimo de 10 campos microscópicos por cerdo: **1:** tonsila. **2:** Pulmón derecho lóbulo craneal apice. **3:** pulmón derecho lóbulo caudal borde dorsal. **4:** pulmón derecho lóbulo caudal parte central. **5:** pulmón derecho lóbulo accesorio borde agudo parte media. **6:** pulmón izquierdo lóbulo craneal apice. **7:** pulmón izquierdo lóbulo craneal borde dorsal. **8:** pulmón izquierdo lóbulo caudal extremo caudal del borde dorsal. **9:** Pulmón izquierdo lóbulo caudal parte central. **10:** Linfonodo traqueobronquial.

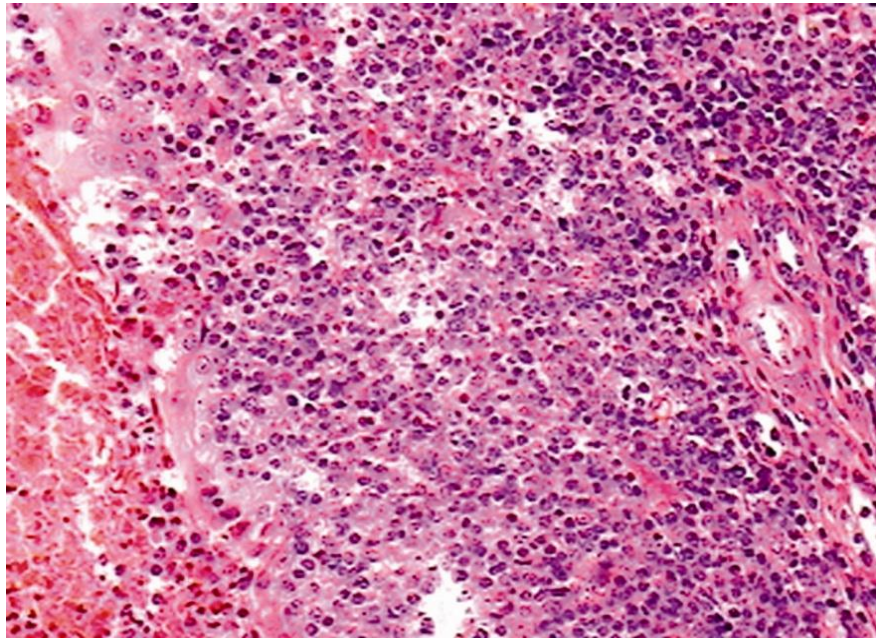


Figura 4 . Sección de tonsila de cerdo destetado tinción de Hematoxilina – Eosina. (40X)

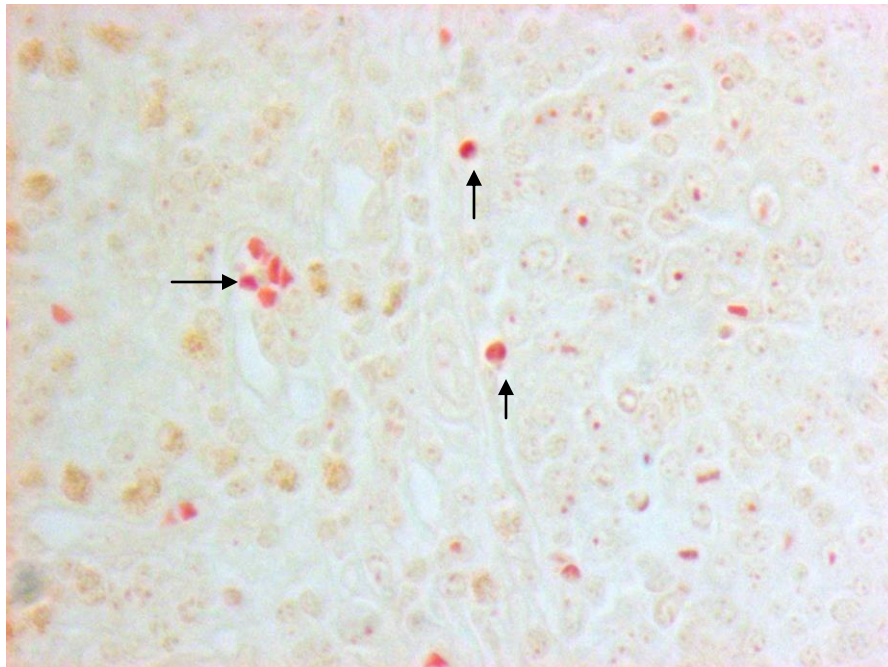


Figura 5. Sección de tonsila de cerdo destetado, se muestran células plasmáticas (células rojo intenso) mediante la tinción verde metil pironina (40X).

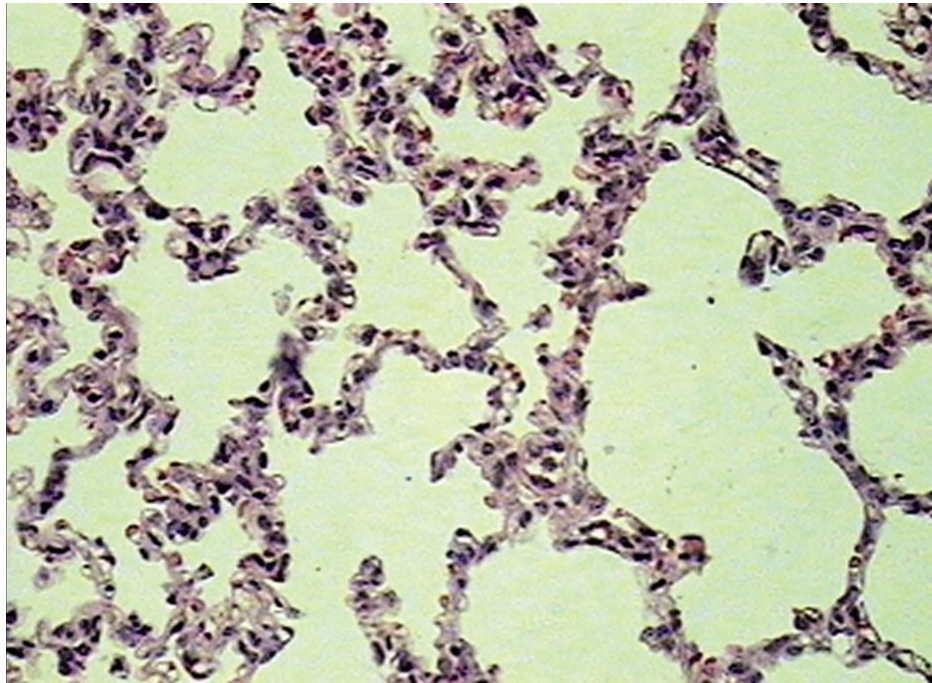


Figura 6 Sección de pulmón izquierdo lobulo caudal de cerdo destetado tinción de Hematoxilina – Eosina. (40X)

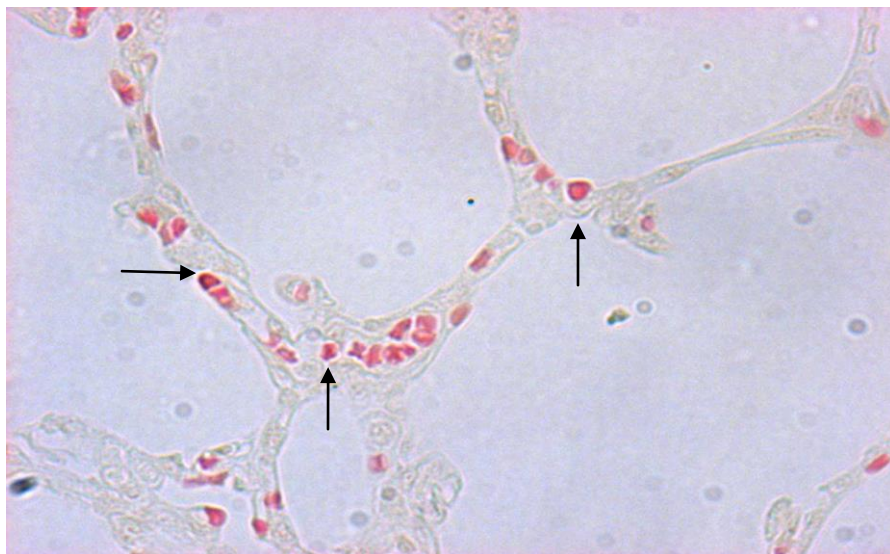


Figura 7 Sección de pulmón izquierdo lobulo caudal de cerdo destetado, se muestran células plasmáticas (células rojo intenso) mediante la tinción verde metil pironina. (40X)

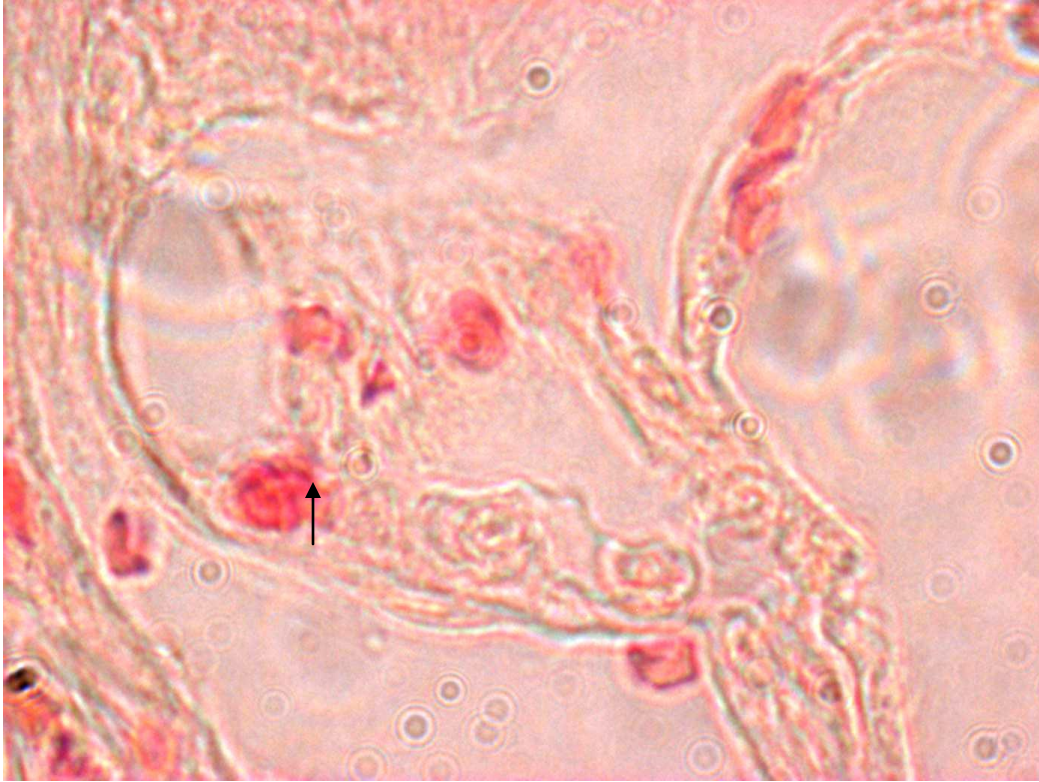


Figura 8 Sección de pulmón izquierdo lobulo caudal de cerdo destetado, se muestran células plasmáticas (células rojo intenso) mediante la tinción verde metil pironina. (100X)

5. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se analizaron regiones pulmonares, tonsila y linfonodo de 4 cerdos en etapa de destete con un peso de 10 Kg los cuales fueron clínica y serológicamente negativos a *Mycoplasma hyopneumoniae*, PRRS, Aujeszky y *Actinobacillus pleuropneumoniae*, esto se realizó con la finalidad de conocer la cantidad y distribución de células plasmáticas (CP) en condiciones normales.

La cantidad de células plasmáticas que se cuantificaron fue escasa el lugar donde se encontraron mas fue en tonsila la cual obtuvo un promedio de 1.42, seguida de linfonodo traqueobronquial con un promedio de 0.57 células en el caso del tejido pulmonar, el pulmón, izquierdo lóbulo caudal borde dorsal fue el que presento la mayor cantidad de células con un promedio de 0.55 células, por lo que se obtuvo una diferencia estadística de ($p < 0.001$) con todas las regiones.

Posiblemente se registro la mayor cantidad de (CP) en tonsila y linfonodo ya que ambas regiones forman parte del sistema inmune de la mucosa respiratoria.

Como se sabe las células plasmáticas son productoras de inmunoglobulinas por lo tanto es de esperar que en donde no hay presencia de patógenos el numero de dichas células sea bajo.

Actualmente ya se tiene más información sobre la distribución de células plasmáticas en tejido pulmonar de cerdos, en un trabajo del que se tiene antecedentes se analizaron la cantidad y distribución de células plasmáticas en cerdos adultos con un peso de 100 Kg en el cual se estudiaron 14 regiones pulmonares, posteriormente se realizó una investigación con cerdos recién nacidos en el cual se analizaron mismas células en 7 regiones. (Castillo y col. 2009, González 2011).

En el primer trabajo mencionado cerdos se analizaron 14 regiones dentro de las cuales se encuentran tonsila, tráquea, epiglotis y pulmón, en dicho trabajo se observo que el corte en tonsila registro en promedio más alto 22.14 ± 31.99 y la tráquea registro el promedio más bajo 0.29 ± 0.24 de CP, en el caso del tejido pulmonar se encontró que el promedio más alto lo presento el pulmón derecho en su porción dorsal en el extremo central obteniendo 3.20 ± 3.37 , mientras que el promedio más bajo lo presento el pulmón izquierdo lóbulo craneal en el ápice 0.56 ± 0.34 .(figura 12) (Castillo y col. 2009)

En la investigación realizada con cerdos recién nacidos los cuales contaban con 30 minutos de vida, se analizaron 7 regiones; tonsila, linfonodo y pulmón. En este caso el linfonodo traqueobronquial fue la región que presento la mayor cantidad de células plasmáticas obteniendo 5.25 (CP), seguida de tonsila en la cual se registraron 2.75 CP, en el caso de la región pulmonar, el pulmón izquierdo lóbulo caudal presento 2 CP Comparando los resultados obtenidos en esta investigación con los que ya se tenían se encuentran ciertas coincidencias en cuanto a regiones una de ellas fue en tonsila de

Cerdos adultos como en la de destete ya que dicha región fue la que registro la mayor cantidad de CP, en el caso del tejido pulmonar no hubo ninguna coincidencia con los adultos ya que la mayor cantidad de células se encontró en el pulmón derecho y en destete la mayor cantidad fue en el pulmón izquierdo lóbulo caudal borde dorsal, en este tejido se coincide con el trabajo realizado en cerdos recién nacidos ya que también el pulmón izquierdo registro la mayor cantidad de células plasmáticas. (Figura 10) (Gonzales 2011)

Como se puede observar en la grafica 9 los cerdos recién nacidos tienen en promedio 3 CP y al llegar a la etapa de destete se observa que el numero de CP disminuye ya que solo tienen una CP en promedio lo que podría indicar que en esta etapa son más susceptibles a trastornos respiratorios ya que el destete es un evento crítico de estrés que los hace más vulnerables a procesos patológicos confirmando que esta etapa causa un efecto inmunodepresivo que favorece la presentación de enfermedades respiratorias.(figuras 9,10) (Gonzales 2011.Luna 2012)

Se observo que el número de células plasmáticas aumento considerablemente al llegar a la etapa de adultos lo que hace pensar que los animales van teniendo una mejor capacidad de montar una respuesta inmune conforme van creciendo de tal modo que la edad tiene un papel importante en el desarrollo del sistema inmune.(figura 11) (Castillo y col. 2009)

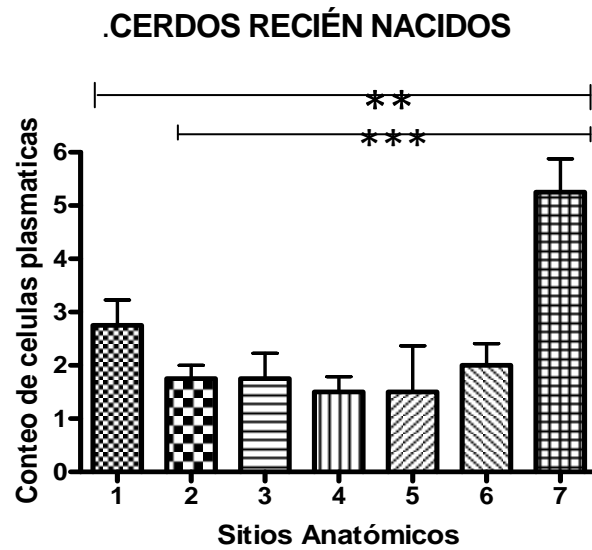


Figura 9. Gráfica de distribución de células plasmáticas en tejido pulmonar de cerdos recién nacidos.

Número de células plasmáticas en diferentes regiones anatómicas en el tracto respiratorio del cerdo recién nacido (n=4). Las barras representan la media y la desviación estándar de células posibles mínimo de 10 campos microscópicos por animal, 1: Tonsila, 2: P.D lóbulo craneal, 3: P.D lóbulo caudal, 4: P.D lóbulo accesorio, 5: P.I lóbulo craneal, 6: P.I lóbulo caudal, 7: Linfonodo traqueobronquial, Las barras representan +/- el error estándar de los campos estudiados en cerdo recién nacido (**P<0.01), (**P<0.001). Prueba estadística de ANOVA. (González 2011)

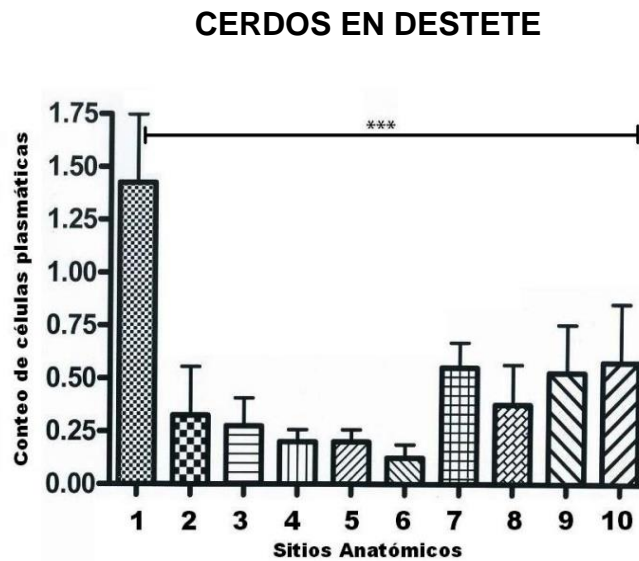


Figura 10. Gráfica de distribución de células plasmáticas en tejido pulmonar de cerdos destetados.

Numero de celulas plasmaticas en diferentes egiones anatomicas en el tracto respiratorio del cerdo recién nacido n= 4.las barras representan la media y la desviacion estandar de celulas posibles minimo de 10campos microscopicos por cerdo **1:**tonsila. **2:**Pulmon derecho loculo craneal apice. **3:**pulmon derecho lobulo caudal borde dorsal. **4:** pulmon dertecho lobulo caudal parte central. **5:**pulmon derecho lobulo accesorio borde agudo parte media. **6:**pulmon izquierdo lobulo craneal apice, **7:**pulmon izquierdo lobulo craneal borde dorsal, **8:**pulmon Izquierdo lóbulo caudal extremo caudal del borde dorsal. **9:** Pulmón izquierdo lóbulo caudal parte central. **10:** Linfonodo traqueobronquial. (Luna 2012)

CERDOS ADULTOS

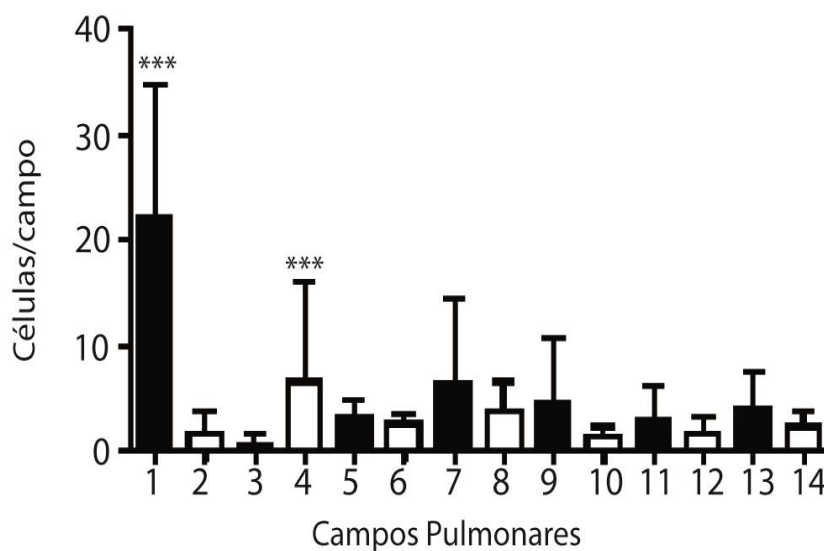


Figura 11. Gráfica d distribución de células plasmáticas en tejido pulmonar de cerdos adultos.

1:Tonsila. **2:** epiglotis. **3:**traquea . **4:**pulmon derecho lobulo craneal (apice). **5:** pulmon derecho lobulo medio (borde dorsal). **6:** pulmon derecho lobulo medio (borde agudo). **7:** pulmon derecho lobulo caudal (extremo caudal del borde dorsal).**8:** pulmon derecho lobulo caudal (parte central). **9:** pulmon derecho lobulo accesorio (borde agudo parte media). **10:** pulmon izquierdo lobulo craneal (apice) **11:** pulmon izquierdo lobulo craneal (porcion caudal borde dorsal) **12:** pulmon izquierdo lobulo craneal porcion caudal borde agudo) **13:** pulmon izquierdo lobulo caudal extremo caudal del borde dorsal. **14:** pulmon izquierdo lobulo caudal (parte central).(Castillo y col. 2009)

6 CONCLUSIONES

- La mayor cantidad de células plasmáticas estadísticamente significativa se encontró en tonsila y el órgano que presento menos cantidad fue en pulmón derecho.
- En el caso del tejido pulmonar se encontraron mayor cantidad de células plasmáticas en el pulmón izquierdo lóbulo craneal borde dorsal en comparación con la demás regiones.
- En base a los resultados obtenidos y al ser compararlos con datos previos de cerdos recién nacidos y adultos se observa una marcada disminución de células plasmáticas de los cerdos destetados lo que podría indicar que son más susceptibles a trastornos respiratorios ya que el destete es un evento crítico de estrés que los hace más vulnerables a procesos patológicos confirmando que esta etapa causa un efecto inmunodepresivo que favorece la presentación de enfermedades respiratorias.

7 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Abbas, Abul, K, "inmunología celular y molecular", editorial Elsevier 5 ta edición 2004 Madrid España.
2. Bancroft, D. Jhon, Gamble, Marilyn, "Theory and practice of Histological techniques" Editorial Elsevier, 6ta. Edition, 2008.
3. Barner, Leslie P. Hiait james L. "Texto Atlas de histología" 2^a. edición, Editorial McGraw-Hill interamericana, México. 2002.
4. Boersma W. J.A, Zwart R J, Sinkora J, "Sumary of workshop findings for porcine B-cell markers. Veterinary Immunology and inmunopathology. 2001.
5. Bullido R, Domenech, N, Ezquerra, A, Dominguez J, " Monoclonal antibodies 2F6/8 recognize a porcine antigen, expressed on B cells and activated Tcell. Journal of Inmunological Methods 222:1:11 1999
6. Castillo Peña, Guadalupe Azucena. "Distribución de células plasmáticas en tejido pulmonar de cerdo adultos clínicamente sanos", Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán UNAM 2009.
7. Cruse, M. Julius. Lewis, Robert E. "Atlas of immunology" second edition, ACA Press USA. 2004.
8. Garrido Fariña, Germán Isauro y Cornejo Cortés, Miguel Ángel. "Manual de colorantes para laboratorios de ciencias biológicas", Primera edición, UNAM, FESC. Cuautitlán Izcalli, Edo. de México, 2003.
9. Gazquez Ortiz Antonio, "tratado de histología veterinaria" Editorial Masson, 2004, España.
10. Geneser, Finn, "Histología", editorial panamericana 3ra edición México 2000.
11. Goldsby. A. Richard, Kuby "Immunology", four edition. New York, 2000.

12. Gonzales Burquéz María de Jesús, "Distribución de células plasmáticas en tejido pulmonar de lechones clínicamente sanos", Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán UNAM 2011.
13. Halliwell R. E W., Gorman N.T., "Inmunología Clínica Veterinaria", Editorial Acribia S.A. España, 1992.
14. Kiernan J. A. "Histological and histochemical methods, theory and practice, third edition 1999
15. Montaña, Hirose, Juan Antonio, "temas selectos de inmunología veterinaria", editorial el manual moderno, México, D.F 2005.
16. Montaráz, Juan Antonio, "Introducción a la Inmunología" primera edición, Cuautitlán Izcalli, Edo. México. FESC-1997.
17. Ogra, L. Pearay. "Mucosal Immunology". Second edition, ACA Press, USA. 1999.
18. Parslow, Tristram G. et. al, "Inmunología Básica y Clínica", 10ª. Edición, Editorial El Manual Moderno, México, DF, 2002.
19. Rojas-Espinosa Óscar. Inmunología. 2ª edición, Editorial Médica Panamericana, México. 2003.
20. Roitt, Ivan, Brostoff, Jonathan. "Inmunología" 4ta. Edición. Editorial Harcourt. Madrid, 1998.
21. Roth J.A "The immune system". En; Straw B.E, D'Allaire D.S. I Taylor B.J Diseases of swine 8th edition, Iowa State university press, Ames, Iowa 1999.
22. Sánchez Vizcaíno José Manuel, "Curso de Introducción a la Inmunología porcina", 2ª edición, Laboratorio Hipra S.A., Madrid ,2004.

23. Soyano, Andrés, Cap. 8 “El renacimiento de la inmunología celular”, <http://www.fveter.unr.edu.ar/Objetos/Sueros/El%20renacimiento%20de%20la%20inmunidad%20celular.pdf>, 2003

24. Stites D.P, Terr A.I., “Inmunología Básica y Clínica”, 7^a edición, Editorial El Manual Moderno, México, D.F., 1993.

25. Tizard Ian R., “inmunología Veterinaria”, 6ta. Edición, Editorial McGraw-Hill Interamericana, México, 2002.