

CARACTERIZACIÓN DE LA CITOARQUITECTURA ESPLÉNICA FETAL DE ALPACAS (*Lama pacos*)

CYTOARCHITECTURE CHARACTERIZATION OF FOETAL SPLEEN IN THE ALPACA (*LAMA PACOS*)

Walter Arias M.¹, Nieves Sandoval Ch.^{1,2}, Alfonso Chavera C.¹, Alberto Manchego S.³

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar la citoarquitectura del bazo de fetos de alpacas en diversos estadios de desarrollo. Se utilizaron 16 fetos obtenidos de alpacas beneficiadas en camales de la sierra central del Perú. Se distribuyeron en seis grupos de acuerdo a su edad gestacional (55, 100, 120, 150, 180 y 200 días). El bazo fue diseccionado y los cortes fueron coloreados con hematoxilina-eosina (distribución celular), Tricrómico de Masson (fibras colágenas y musculares) y Ácido Periódico de Schiffs para impregnación argéntica (fibras reticulares) para la evaluación histológica. Macroscópicamente, a los 55 días se le observa como un pequeño esbozo, a partir de los 120 días comienza a tomar una forma triangular con lobulaciones y a los 150 días adquiere el aspecto del bazo del adulto. Histológicamente, a los 55 días predomina el tejido conectivo embrionario en proceso de transición hacia el reticular con algunos linfocitos en los grandes vasos, y células de morfología compatible con nidos hematopoyéticos, que persisten en las etapas posteriores. A los 100 días, la cápsula invade el parénquima para formar las trabéculas y en el parénquima aparecen cúmulos linfoides alrededor de vasos sanguíneos. A los cúmulos linfoides se les puede denominar como pulpa blanca a los 120 días y los nidos hematopoyéticos se diferencian hacia la línea de la serie eritroide hacia los 150 días. A los 180 días, la red folicular está casi llena de linfocitos, asemejándose a un folículo linfoide maduro donde la arteriola central está siendo desplazada hacia la periferie, tomando a los 200 días una apariencia histológica similar al bazo de un animal adulto.

Palabras clave: alpaca, feto, bazo, folículo linfoide, nidos hematopoyéticos

ABSTRACT

The aim of the present study was to determine the spleen cytoarchitecture in alpaca fetuses of different stages of development. Sixteen alpaca fetuses were obtained from female alpacas slaughtered in the central highlands of Peru. The fetuses were distributed in six groups according to their fetal age (55, 100, 120, 150, 180, and 200 days). Splens

¹Laboratorio de Histología, Embriología y Patología Veterinaria, ³Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima

²E-mail: nieves.sandovalchaupe@gmail.com

were dissected and samples were stained with hematoxylin-eosin (cellular distribution), Masson's trichrome (collagen and muscle fibers), and periodic acid Schiff for argentic impregnation (reticular fibers) for histological evaluation. Macroscopically, the spleen at 55 days of age is slightly outlined, at 120 days is lobed with a triangular shape and at 150 days had the appearance of the mature animal. Microscopically, at 55 days there is a predominance of transitional embryonic connective tissue to reticular tissue and some lymphoid cells are located in large vessels, plus cells compatible with hematopoietic nests that are seen in all later stages. At day 100, fibrous connective tissue of the capsule infiltrates the parenchyma to form trabecules and lymphoid cells form lymphoid cumuli that surround the large vessels. At day 120, lymphoid cumuli can be named as white pulp, and the hematopoietic nests become the erythroid series by day 150. At 180 days, lymphoid follicles are filled with lymphocytes resembling mature lymphoid follicles, where the central arteriole is displaced to the surface. Finally, by day 200, the spleen has similar histological appearance of the adult.

Key words: alpaca, fetuses, spleen, lymphoid groups, hematopoietic nest

INTRODUCCIÓN

La crianza de alpacas en el Perú es una actividad socioeconómica de gran importancia. Las elevadas tasas de mortalidad por causas infecciosas, mayormente en las crías, afectan la rentabilidad y sostenibilidad de su crianza; sin embargo, se han realizado pocos estudios sobre el sistema inmune de los camélidos sudamericanos, especialmente en el desarrollo de los órganos linfoides durante la etapa fetal que proporcionen bases sólidas para comprender la patogénesis de las enfermedades y, sobre la base de tales conocimientos, desarrollar métodos de prevención y control eficaces (Fernández Baca, 2000).

La alpaca posee un complicado sistema inmune, similar al de los rumiantes (Davis *et al.*, 2000), pero se conoce muy poco sobre la ontogenia y los componentes estructurales y celulares de los diversos órganos linfoides en la etapa fetal. El bazo constituye la mayor masa de tejido linfóide interpuesto en la circulación sanguínea y es el principal lugar donde se produce la respuesta inmunitaria frente a los antígenos transportados por la sangre. El presente estudio caracte-

rizó la citoarquitectura del bazo fetal con el fin de aportar conocimientos sobre la ontogenia de este órgano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se emplearon 16 fetos de alpacas cuyas edades gestacionales abarcaron un rango comprendido entre 60 a 210 días de edad. Los fetos se obtuvieron de alpacas gestantes beneficiadas en camales municipales de la sierra central del Perú (Huancayo y Huancavelica). La edad fetal fue calculada en base al diámetro biparietal fetal según la fórmula propuesta por Gazitua *et al.* (2001).

Se hizo una evaluación macroscópica del bazo teniendo en cuenta su localización, forma y aspecto. Para realizar el estudio histológico y citológico del órgano se obtuvieron muestras mediante secciones perpendiculares a su eje central. A continuación se fijaron en Bouin y formol bufferado al 10%, se incluyeron en parafina y se cortaron a un grosor aproximado de 5 μ m. Las secciones obtenidas se colorearon empleándose tres técnicas de tinción: Hematoxilina-Eosina, Tricrómico de Masson e impregnación argéntica con Ácido Periódico de Schiff's.

RESULTADOS

El bazo del feto de alpaca es una estructura fácilmente reconocible en fetos de 100 días de edad gestacional. Está situado, al igual que en la alpaca adulta, en la región dorso-medio lateral izquierdo de la cavidad abdominal. Se encuentra sobre la bolsa del rumen fetal, es de forma alargada, aplanada e irregularmente triangular; tiene la superficie parietal convexa y relacionada con la pared abdominal y la superficie visceral cóncava, relacionada a la cara parietal del rumen. El borde craneal es delgado, mientras que el borde caudal es engrosado y relacionado al polo craneal del riñón izquierdo. Su cápsula se observa como una fina tela y el parénquima es de color púrpura.

La descripción histológica se realizó en base al estudio de 1, 3, 3, 3, 4 y 2 fetos de 55, 100, 120, 150, 180 y 200 días de edad gestacional aproximada, respectivamente.

Feto de 55 días

La cápsula se encuentra en proceso de formación. El mesotelio es el estrato que se distingue claramente a manera de una capa epitelial de grandes células poliédricas asentadas en el estrato conjuntivo (Fig. 1). Este último no está bien delimitado y se observa como una fina capa con predominio de fibroblastos y fibras colágenas que están empezando a ordenarse y consolidarse.

En el parénquima predominan grandes lechos vasculares, sobre todo en la parte central o medular del órgano. En la zona del hilio se aprecian vasos de mediano calibre y sus ramificaciones vasculares se infiltran hacia la corteza del órgano, donde se aprecian pequeños vasos de endotelio plano simple, así como vasos en formación (vasculogenesis). El tejido celular predominante es el conectivo embrionario en proceso de transición hacia tejido conectivo reticular, que se encuentra alrededor de grandes lechos vasculares. No

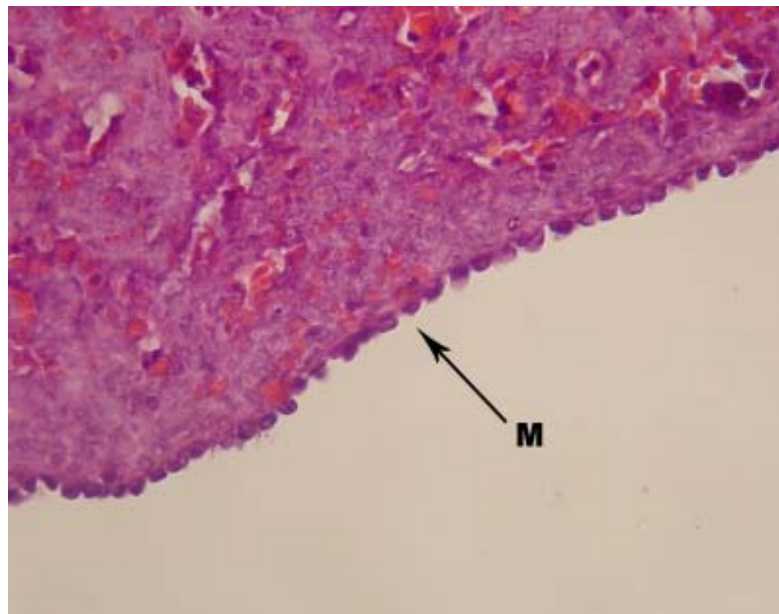


Figura 1. Corte histológico del bazo de un feto de alpaca de 55 días de edad gestacional, mostrando el mesotelio. H-E 400x

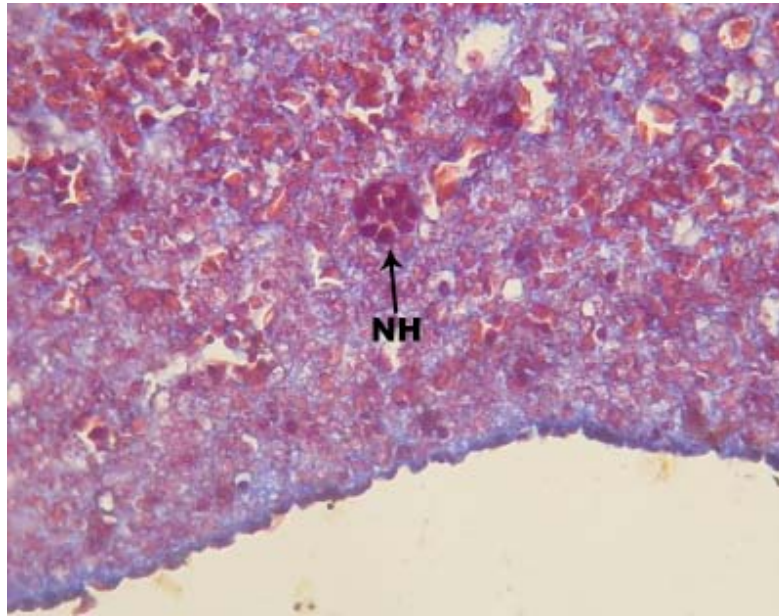


Figura 2. Corte histológico del bazo de un feto de alpaca de 55 días de edad gestacional, mostrando nidos hematopoyéticos (NH) en proceso de diferenciación. Tricrómico de Masson 400x

se observa tejido linfoide organizado, aunque sí algunos linfocitos localizados en la luz de los grandes vasos o adheridos a sus paredes, lo que indicaría que estos linfocitos están colonizando el bazo. También se observan algunas células grandes, respecto a las demás, caracterizadas por ser redondeadas, homogéneas y agrupadas en aposición estrecha, con núcleo de coloración basófila intenso, compatibles con nidos hematopoyéticos o clones de células en proceso de diferenciación (Fig. 2).

Fetos de 100 días

La cápsula se encuentra delimitada del resto de parénquima. Comienza a predominar el estrato conjuntivo, las grandes células mesoteliales comienzan a hacerse más planas y el tejido conjuntivo más grueso. En algunos puntos de la cápsula se puede apreciar como se origina las trabéculas del órgano.

En el parénquima continúa el predominio de grandes lechos vasculares que rodean acúmulos linfoides alrededor de una arteriola. Estos lechos vasculares pueden llegar a originar senos venosos o capilares sinusoidales. Se aprecia la presencia de linfocitos de manera aislada y algunos agrupados a manera de cúmulos linfoides, de forma irregular, alrededor de arteriolas trabeculares, semejándose a las vainas linfáticas periarteriolas y, otros a manera de pequeños folículos, que albergan un reducido grupo de linfocitos, alrededor de una arteriola central (Fig. 3).

Fetos de 120 días

El estrato mesotelial de la cápsula se encuentra a manera de un epitelio de células cúbicas, mientras que el estrato conjuntivo está compuesto por fibroblastos y fibras colágenas, donde parten ramas delgadas de tejido conectivo denso formado las trabéculas.

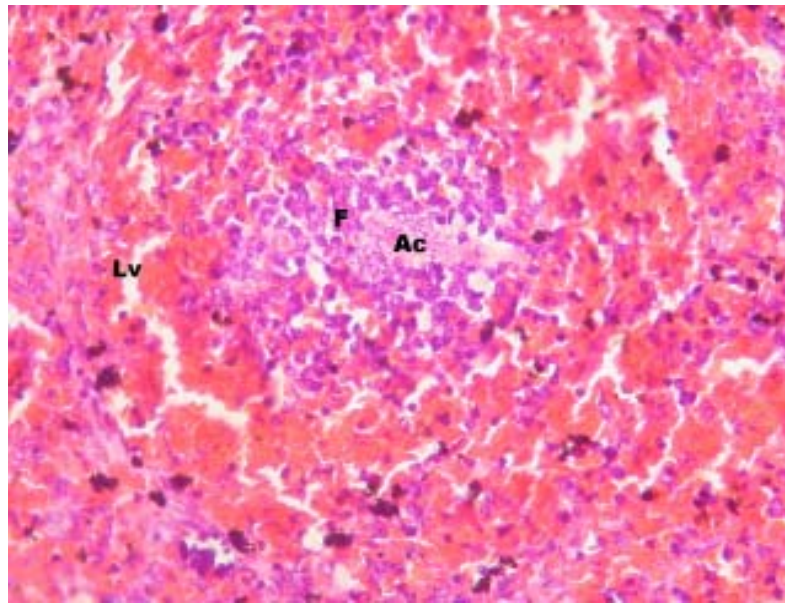


Figura 3. Corte histológico del bazo de un feto de alpaca de 100 días de edad gestacional. Se observa el cúmulo linfoide (F) a manera de folículo alrededor de una arteriola central (Ac) y grandes lechos vasculares (Lv) en la periferia. H-E 400x

En el parénquima se aprecia una mayor consolidación de la citoarquitectura, que ya se puede denominar como pulpa roja. Los cúmulos linfoides están mejor organizados; se les puede apreciar como una malla compuesta de células y fibras reticulares que atrapan linfocitos alrededor de una arteriola central, pudiéndoseles denominar como folículos linfoides primarios o inmaduros, constituidos por linfocitos, aún de manera escasa, pero que conforman la pulpa blanca.

Fetos de 150 días

En la cápsula, el estrato conjuntivo alcanza hasta cinco veces el grosor del mesotelio. La infiltración trabecular alcanza mayor profundidad hasta la parte medular. En el parénquima se observa equidad entre pulpa roja y blanca. También se observa una gran cantidad de nidos hematopoyéticos, pero en esta edad ya se puede evidenciar la presencia de un citoplasma acidófilo y el núcleo

es basófilo intenso. Estos nidos se van diferenciando hacia la línea de la serie eritroide (Fig. 4).

Fetos de 180 días

En el estrato conjuntivo de la cápsula comienzan a aparecer haces de fibras musculares de color rojo diseminadas entre las fibras de color celeste (fibras colágenas). En el parénquima empieza a predominar la pulpa blanca sobre la pulpa roja. La red folicular está casi llena de linfocitos, asemejándose a un folículo linfático primario donde la arteriola central esta siendo desplazada hacia la periferia (Fig. 5).

Fetos de 200 días

La cápsula se encuentra más engrosada y consolidada. La presencia de fibras musculares lisas se hace más evidente, a manera de haces de fibras de color rojo inte-

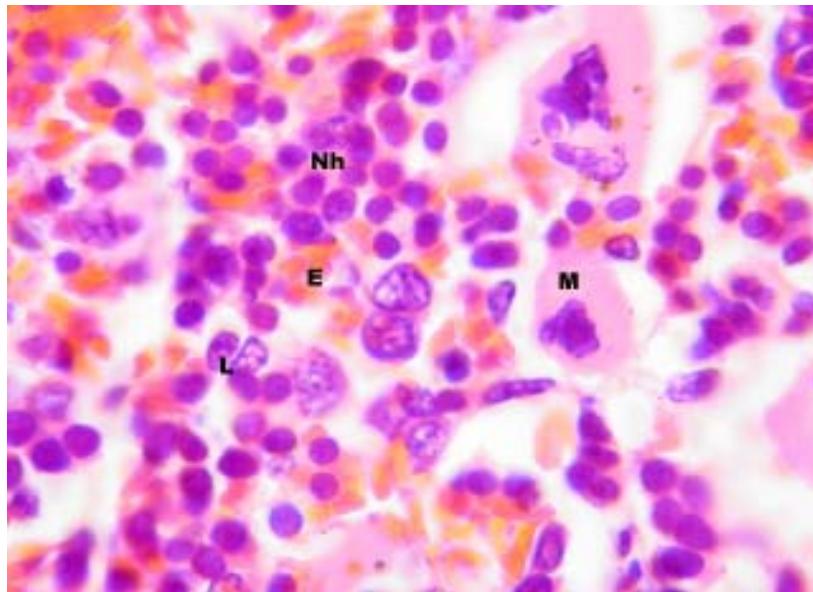


Figura 4. Corte histológico del bazo de un feto de alpaca de 150 días de edad gestacional. Se observan nidos hemotopoyéticos en proceso de diferenciación hacia la serie eritroide (Nh), eritrocitos (E), linfocitos (L) y megacariocitos (M). H-E 1000x

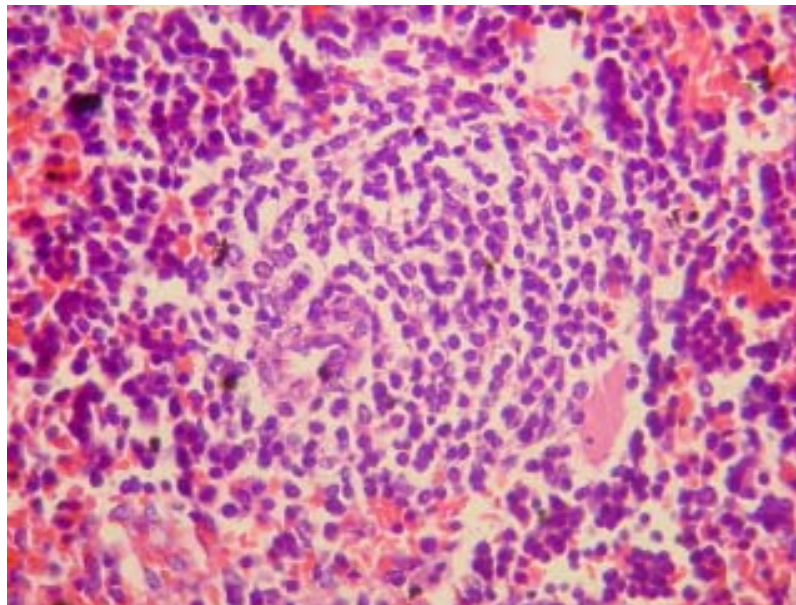


Figura 5. Corte histológico del bazo de un feto de alpaca de 180 días de edad gestacional. Se observa un folículo linfoide primario con arteriola central que está siendo ligeramente desplazada hacia la periferia. H-E 400x

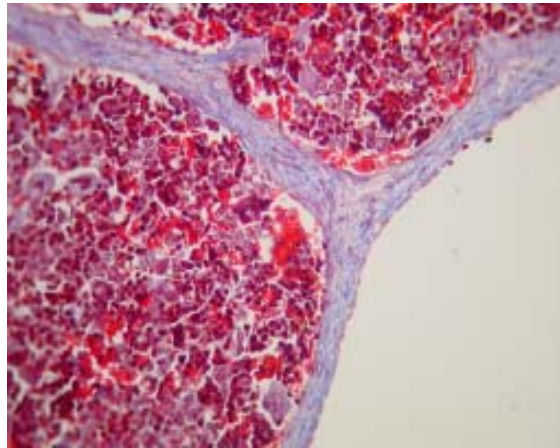


Figura 6. Corte histológico del bazo de un feto de alpaca de 200 días de edad gestacional. Se observan trabéculas formando septos gruesos. Tricrómico de Masson, 400x

grando, junto con las fibras reticulares y colágenas, a las trabéculas (Fig. 6). El parénquima tiene una apariencia similar al bazo de un animal adulto. Continúa el predominio de la pulpa blanca, con folículos grandes, completamente poblados de linfocitos, haciéndose más evidente la presencia de folículos linfáticos primarios.

DISCUSIÓN

Todos los especímenes utilizados en el presente estudio, incluyendo aquel de 55 días, fueron considerados como fetos, toda vez que se tiene evidencia que en la quinta semana de gestación se distingue claramente la cabeza, ojos y diversos órganos internos (Pizarro, 1999).

El bazo fue fácilmente detectable en los fetos evaluados, a excepción del feto de 55 días, cuya identificación y disección fue difícil debido a su pequeño tamaño. Estudios en bovinos señalan que los primeros esbozos de bazo empiezan a desarrollarse a los 29 días de gestación (Holy, 1987) y que está estructuralmente presente a los 55 días (Tizard, 2002). En el presente estudio el esbozo de bazo se encontraba estructuralmente

presente a los 55 días, encapsulado y con parénquima con tejido conectivo embrionario con nidos hematopoyéticos y entramado reticular, lo cual es indicativo que el tejido está diferenciándose y especializándose en un tejido conjuntivo propiamente, tal como se describe en el bovino (Schultz *et al.*, 1973). Así mismo, la presencia de linfocitos en los vasos sanguíneos indicaría la colonización del esbozo por linfocitos maduros procedentes del hígado fetal, médula ósea y timo. Estos serían linfocitos maduros vírgenes que no han sido estimulados previamente por antígenos y es aquí donde se asientan y proliferan de acuerdo a la estimulación antigénica expuesta (Abbas *et al.*, 2002; Tizard, 2002).

Los nidos hematopoyéticos observados desde el feto más joven (55 días) hasta el de mayor desarrollo (210 días), indican que la función hematopoyética del bazo fetal se inicia desde muy temprana edad y persiste a medida que transcurre el tiempo de gestación (Ruscetti, 1998). La hematopoyesis puede ser vista en el bazo del feto bovino de 55 días bajo la forma de agrupaciones de núcleos pequeños, redondeados, oscuros y con muy poco citoplasma (Schultz *et al.*, 1973), de manera similar a la observada en el presente estudio. Estos nidos hematopoyéticos, que en sus etapas iniciales, podrían ser de

diversas estirpes celulares en proceso de diferenciación, en etapas posteriores (150 días) empiezan a diferenciarse morfológicamente hacia la línea eritrocítica, asemejándose al proceso de hematopoyesis descrito en la literatura (Dellman y Brown, 1982).

La diferenciación de la pulpa blanca y roja del parénquima esplénico se observó en fetos de 120 días. A partir de esa edad se observa una mayor consolidación de la citoarquitectura y también los cúmulos linfoides están mejor organizados, pues se les aprecia como una malla compuesta de células y fibras reticulares que atrapan linfocitos, alrededor de una arteriola central; pudiéndoseles denominar como folículo linfoide inmaduro. En estudios sobre ontogénesis en bazo de bovinos se encontró que la pulpa blanca y roja estuvo parcialmente diferenciada en fetos desde los 80 días (Schultz *et al.*, 1973); sin embargo, el momento exacto del periodo fetal en que se puede denominar como pulpa blanca y roja es difícil de establecer, ya que la morfología y desarrollo de la pulpa blanca depende exclusivamente de la estimulación antigénica a la que ha sido sometido el feto, independientemente de su edad (Schultz *et al.*, 1973; Osburn *et al.*, 1982).

La cápsula está conformada desde sus inicios por dos estratos, a diferencia del animal adulto que presenta tres estratos (mesotelial, conjuntivo y muscular) (Fernández, 1999). No obstante, a partir de los 180 días surgen haces de fibras musculares lisas entremezcladas con fibras colágenas en el estrato conjuntivo, el cual probablemente se convertirá en el estrato muscular observado en el animal adulto. No existe literatura para comparar el desarrollo de la cápsula y el estroma del bazo fetal descrito en este estudio.

LITERATURA CITADA

1. **Abbas AK, Lichtman AH, Pober J. 2002.** Inmunología celular y molecular. 4^{ta} ed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana. 577 p.
2. **Davis WC, Heiman LR, Hamilton MJ, Parishm SM, Barrington GM, Loftis A, Rogers M. 2000.** Flow cytometric analysis of an immunodeficiency disorders affecting juvenile llamas. *Vet Immunol Immunop* 74: 103-120.
3. **Dellman HD, Brown E. 1982.** Histología veterinaria. 2^a ed. España: Ed. Acribia. 177 p.
4. **Fernández D. 1999.** Caracterización de la estructura histológica de los órganos linfoides en Alpacas. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos. Lima. 51 p.
5. **Fernández Baca S. 2000.** Camélidos sudamericanos. *Agroenfoque* 114: 48-54.
6. **Gazitua F, Corradini P, Ferrando G, Raggi L, Parraguez V. 2001.** Prediction of gestational age by ultrasonic fetometry in llamas. (*Lama glama*) and alpacas (*Lama pacos*). *Anim Reprod Sci* 66: 81-92.
7. **Holy L. 1987.** Biología de la reproducción bovina. 2^a ed. La Habana: Ed. Científica Técnica. 344 p.
8. **Osburn B, Mac Lachlan N, Terrel T. 1982.** Ontogeny of the immune system. *J Am Vet Med Assoc* 181: 1049-1051.
9. **Pizarro R. 1999.** Camelidotecnia. Lima: Concytec. 128 p.
10. **Ruscetti FW, Keller JR, Longo DL. 1998.** Hematopoyesis. En: Harrison (ed). Principios de medicina interna. Vol. I. 14^o ed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana. p 724-729.
11. **Sato A, Montoya L. 1989.** Anatomía macroscópica del aparato digestivo de la alpaca (*Lama pacos*). Lima: IVITA-UNMSM. Bol Téc N° 6. 18 p.
12. **Schultz R, Dunne H, Heist C. 1973.** Ontogeny of the bovine immune response. *Infect Immun* 7: 981-991.
13. **Tizard I. 2002.** Inmunología veterinaria. 6^a ed. México: Ed McGraw-Hill Interamericana. 517 p.