

Detección y cuantificación de EOSINOFILOS en placa de Peyer de rata

M. en C. Francisco Jaramillo González
Biól. Ma. Consolación Martínez Saldaña
T.L.Q. Rosa Isela Sandoval Lozano
M. en C. Javier Ventura Juárez *

RESUMEN

Los eosinófilos son células del tejido sanguíneo de la serie granulocítica, que participan de diversas maneras en los mecanismos de la respuesta inmune. La Placa de Peyer es una estructura linfopitelal compleja distribuida a lo largo del intestino delgado que contiene todas las células indispensables para la respuesta inmune. La presencia de eosinófilos en la mucosa intestinal se mencionan tradicionalmente como un integrante de la población celular sin dar detalle en número y localización específica. Se ha descrito una asociación entre la eosinofilia de la mucosa intestinal y las parasitosis, sin embargo, el mayor número de estudios acerca del eosinófilo se ha desarrollado en células obtenidas de sangre periférica.

Mediante la técnica histológica habitual, con el método de tinción de la **eritrosina B alcalina** se detectó y cuantificó la población de eosinófilos en las placas de Peyer de la mucosa intestinal obtenidas de 10 ratas de la Cepa Wistar. La distribución de eosinófilos en las placas de Peyer se encontró preferentemente en las regiones perivasculares y en las adyacentes a las criptas intestinales.

INTRODUCCION

La placa de Peyer se ha estudiado morfológica y funcionalmente en roedores, aves y humano, principalmente en lo que respecta a sus elementos celulares, tanto de los folículos linfoides como de las células que forman parte de su epitelio (^{1,2,3,4,5,6,7}).

Por otra parte, el estudio de los eosinófilos se ha desarrollado bastante en los últimos diez años, se han identificado múltiples sustancias

químicas y enzimas que participan en los mecanismos implicados en diversas funciones que realiza el eosinófilo. Contienen una Proteína Básica Mayor (MBP) que es fuertemente citotóxica para parásitos y tejidos del huésped, y la peroxidasa del eosinófilo (EPO) que actúa sobre el peróxido de hidrógeno para formar ácido hipoaloso y de esta manera constituir mecanismos destructores de parásitos y bacterias. Las enzimas encontradas fueron: la glicerofosfatasa, adenosintrifosfatasa, arilsulfatasa, colagenasa, histaminasa, catepsina, ribonucleasa y fosfatasa ácida, mediante las cuales participa como célula fagocítica y probablemente, te actúa en la modulación de las reacciones inflamatorias e inmunitarias (^{10,11}).

La placa de Peyer es una estructura linfopitelal que contiene todas las células indispensables para establecer las respuestas inmunitarias, pero se desconoce si existen células accesorias del sistema inmunitario como los eosinófilos para coadyuvar en la posible modulación de tales reacciones, así como de los procesos inflamatorios locales, por lo que el propósito de este trabajo fue hacer estudios morfológicos cuantitativos y cualitativos sobre los eosinófilos en la placa de Peyer de rata de las diferentes porciones del intestino delgado.

MATERIAL Y METODOS

Se trabajó con 10 ratas de la cepa Wistar. A cada una se le anestesió y desangró por vía cardíaca para posteriormente realizar una laparatomía mediante la cual se obtuvo el intestino delgado, se lavó con solución salina de fosfatos (PBS) para eliminar el material intestinal. Se identificaron y obtuvieron los segmentos intestinales que contenían placa de Peyer en las regiones proximal,

medial y distal, se fijaron en solución de formaldehído al 10% por 24 horas. Se procesaron histológicamente mediante la técnica rutinaria hasta su inclusión en parafina, de tal manera que se pudieran realizar cortes transversales de los segmentos intestinales que contenían a la placa de Peyer. Se hicieron cortes en serie de 5 μ de espesor desde el inicio hasta el final de la placa de Peyer, se montaron cinco cortes por cada portaobjetos hasta completar 30 portaobjetos (50 cortes seriados de la porción proximal, 50 de la porción medial y 50 de la porción distal).

Tinción específica de los cortes histológicos para identificar eosinófilos. Se realizó mediante la técnica del Dr. Luis Benítez Bribiesca que identifica específicamente eosinófilos al teñir los gránulos que contienen Proteína Básica Mayor con Eritrosina B (²⁴).

Cuantificación de eosinófilos en placa de Peyer. Mediante la utilización de la rejilla del ocular se cuantificó el área de tejido de una placa de Peyer que se multiplicó por el grosor del corte (5 μ) para obtener el volumen de tejido observado, en el cual también se determinó el número de eosinófilos. De igual manera se procedió para el análisis de 2 vellosidades intestinales opuestas a la placa; para este fin sólo se revisaron los cortes 1, 3, y 5 de cada serie de 5.

RESULTADOS

El estudio de la población de eosinófilos se realizó mediante la utilización del método de eritrosina B alcalina, obteniéndose una tinción aceptable de estas células ya que sus gránulos que contienen Proteína Básica Mayor son altamente afines a la eritrosina.

La población de eosinófilos se identificó preferentemente en la **lámina propia de las vellosidades intestinales** (Figs. 1 y 2). A nivel de la placa de Peyer se identificaron principalmente en la **región subepitelial** (Fig. 3) y **partes basolaterales** (Fig. 4), pero en mayor número en las **regiones perivasculares** (Fig. 5) y adyacentes al fondo de las criptas intestinales (Fig. 6).

La cuantificación de las células se realiza obteniendo el coeficiente del área del tejido linfoide observado entre el número de eosinófilos.

El análisis de resultados nos muestra que la población es predominante en la lámina propia de las vellosidades intestinales de la región medial del intestino delgado (gráfica I), en cambio en la placa de Peyer dicha población celular es muy pobre, identificándose preferentemente en la región proximal (gráfica II).

En términos generales se observa que la población de eosinófilos en todos los especímenes es aproximadamente 10 veces mayor el número de células en las vellosidades que en el tejido linfoide de la placa de Peyer.

DISCUSION

La presencia de eosinófilos en la mucosa intestinal se menciona tradicionalmente como un integrante más de la población celular, sin dar detalles en número y localización

específica (13). En la bibliografía especializada se describe una asociación frecuente entre la eosinofilia de mucosa intestinal y las parasitosis, sin embargo, el mayor número de estudios acerca del eosinófilo se ha desarrollado en células obtenidas de sangre periférica.

En lo que respecta a la placa de Peyer no encontramos estudios que describan la presencia de eosinófilos en esta estructura, sin embargo, en estudios recientes se ha cuantificado la presencia de mastocitos en placa de Peyer de ratón (8).

En nuestro trabajo hemos analizado detalladamente la población de eosinófilos en placa de Peyer y encontramos que en lo general hay mayor cantidad de estas células en las regiones perivasculares y en las adyacentes a las criptas intestinales de la placa de Peyer de la región proximal del intestino.

Por otra parte, observamos que la población de estas células en todos los especímenes es aproximadamente 10 veces mayor en las vellosidades intestinales que en el tejido linfoide de la placa de Peyer.

Al no contar con datos de otros estudios no podemos contrastar nuestros resultados, por lo tanto, nuestros hallazgos sugieren que la presencia de eosinófilos indican que estas células puedan interactuar con las células linfoides del nódulo, y para ello es necesario conocer qué tipo de

receptores de superficie posee el eosinófilo.

Para complementar y poder contar con parámetros de comparación es necesario investigar si esta distribución poblacional de eosinófilos encontrados en la rata se presenta en el humano.

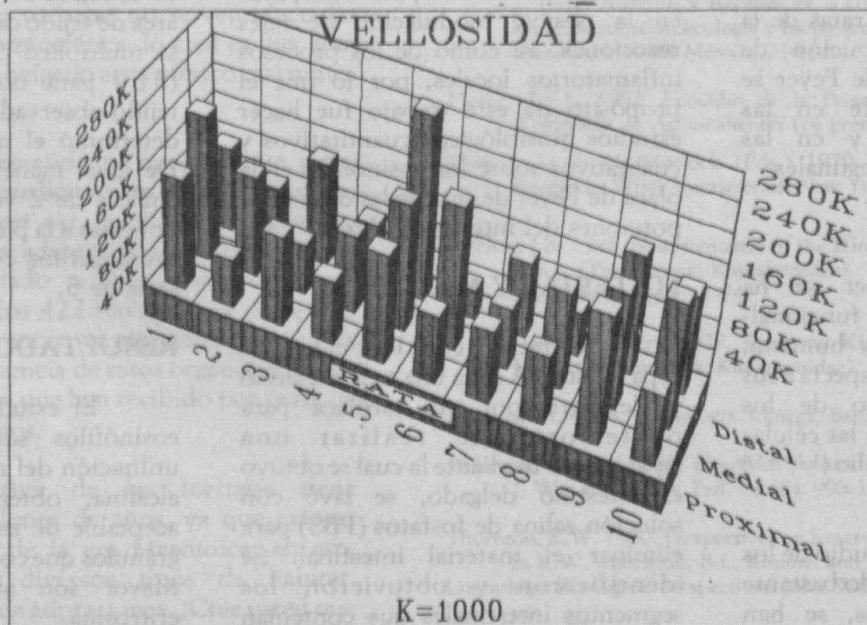
CONCLUSIONES

La técnica de tinción empleada, constituye un método eficaz y confiable para este trabajo, lo que permitió la identificación específica de eosinófilos.

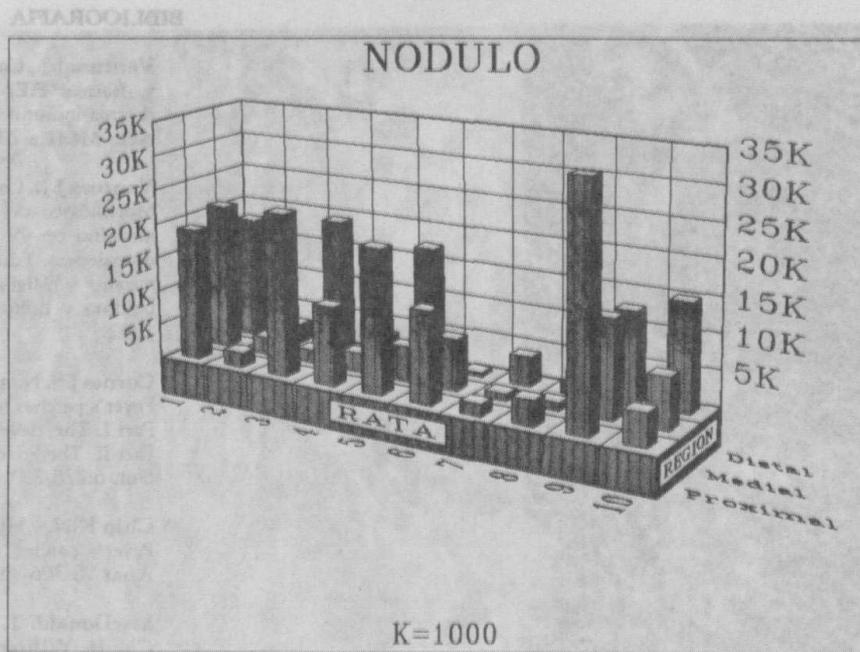
Es notoria la abundancia de eosinófilos en lámina propia de la mucosa intestinal, lo cual contrasta con la pobre población de eosinófilos en la placa de Peyer.

Los eosinófilos forman parte de las poblaciones celulares de la placa de Peyer, situándose preferentemente en las zonas perivasculares y adyacentes a las criptas intestinales.

La existencia de eosinófilos en placa de Peyer entre otras poblaciones celulares estudiadas, constituye un avance notable y una base para la comprensión de los aspectos funcionales que desempeña esta estructura en forma local en el campo de la inmunología de la mucosa intestinal.



GRAFICA I
MILES DE CELULAS POR MM3



GRAFICA II
MILES DE CELULAS POR MM³



Figura 1.- Corte transversal del intestino delgado de rata que muestra las vellosidades intestinales con eosinófilos (flechas) teñidos con eritrosina B alcalina en su lámina propia (100 X).

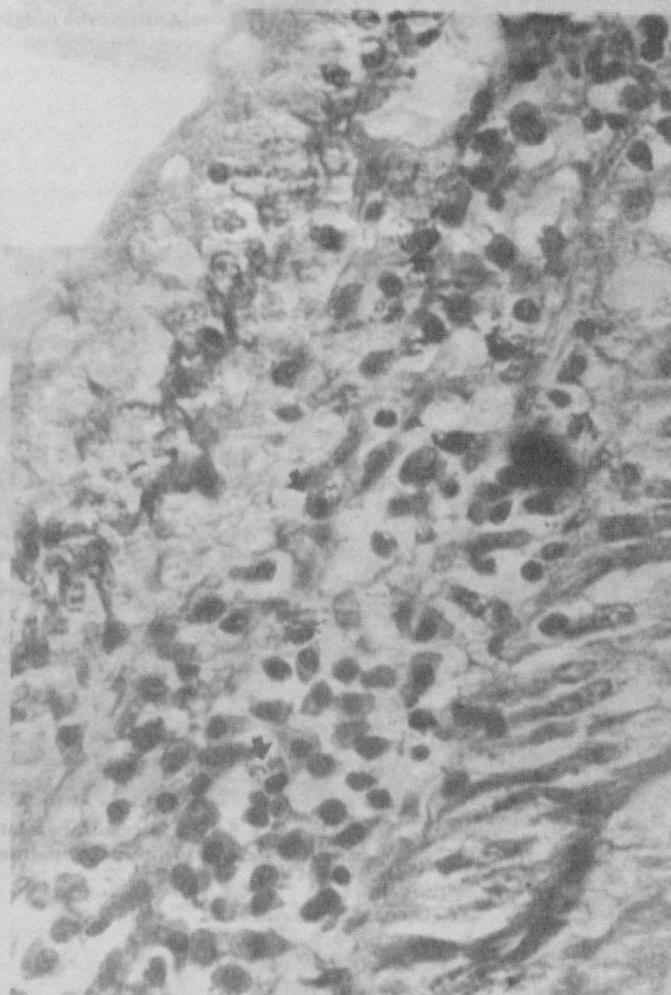


Figura 2.- Aumento de la figura anterior, se observan claramente a los eosinófilos de color rojo (flecha) en la lámina propia (400 X).

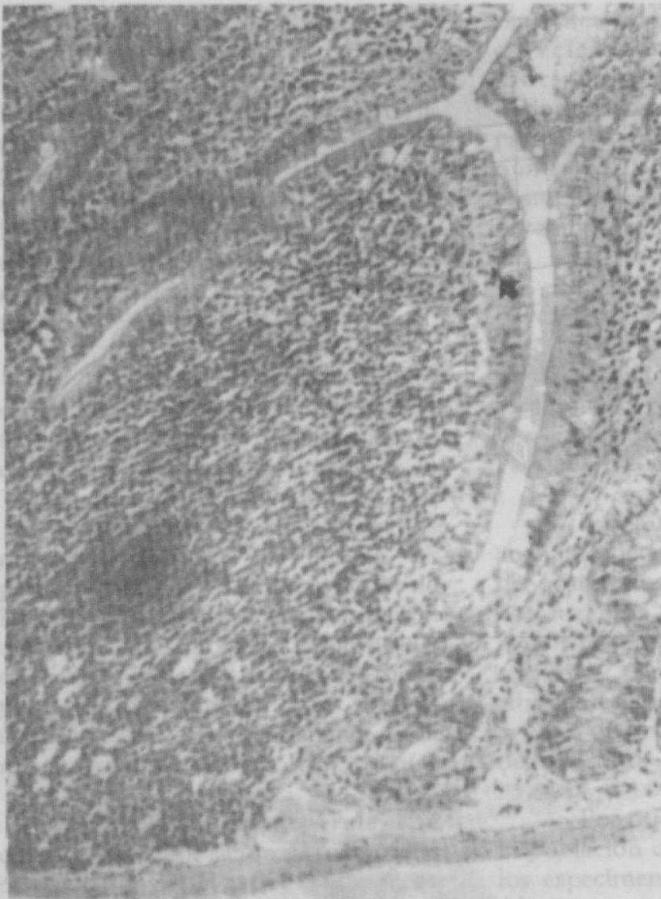
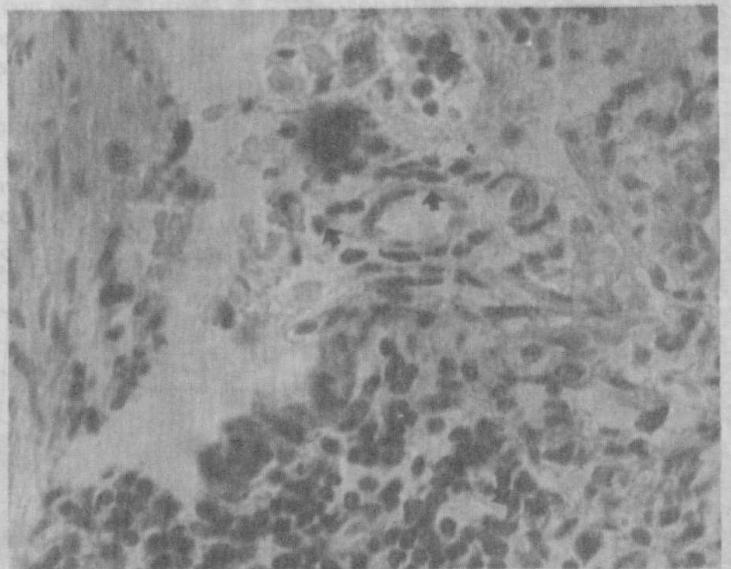
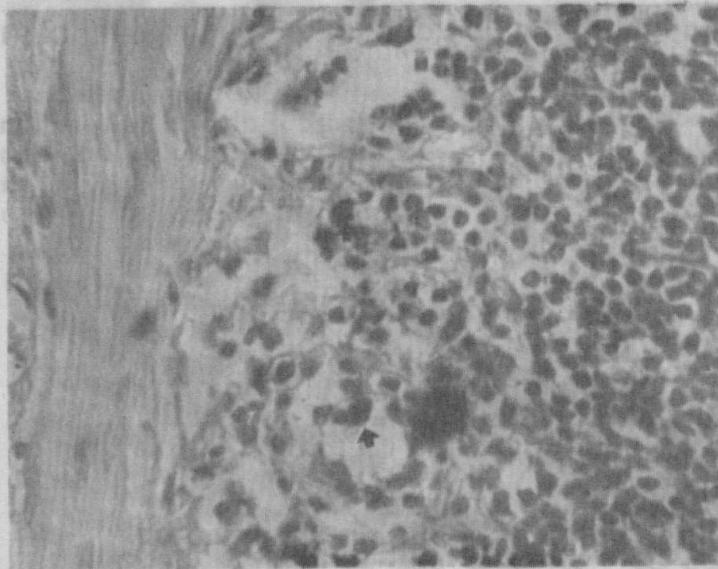


Figura 3.- Corte transversal del intestino delgado de rata a nivel de una placa de Peyer, se observan escasos eosinófilos (flecha) en la región subepitelial de este órgano linfoepitelial (100 X).



Figuras 4 y 5.- En la región basolateral de la placa de Peyer se observan mayor cantidad de eosinófilos principalmente en las regiones perivasculares (400 X).

BIBLIOGRAFIA

- 1 Ventura J.J., Campos R.R., Becerril M.A. y Laura P.E. Poblaciones celulares del sistema inmunitario de la mucosa intestinal. *Acta Médica* 23 (92): 39-47. 1987.
- 2 Ventura J.J., Campos R.R. Cap. 8. Estudio Morfológico del tejido linfoide asociado a intestino pp 99-100. Libro: **Inmunología de micosas**. Editores: Gustavo Acosta Altamirano y Miguel Cruz López. Ed. Distribuidora y Editora Mexicana S.A. de C.V. 1992.
- 3 Cornes J.S. Number, size and distribution of Peyer's patches in the human small intestine. Part I. Thr. development of Peyer's patches. Part II. The effect of age on Peyer's patches. *Gut*. 6:225-233. 1965.
- 4 Chin K.N. y Hudson G. Ultrastructure of Peyer' patches in the normal mouse. *Acta Anat* 78:306-318. 1971.
- 5 MacDonald. T.T., J. Spencer, J.L. Viney, Ch. B. Williams y J.A. Walker-Smith. Selectiva biopsy of human Peyer's patches during ileal endoscopy. *Gastroenterology* 93:1356-1362. 1987.
- 6 Owen R.L. y Jones A.L. Epithelial cell specialization within human Peyer's patches: and ultraestructural study of intestinal limphoide follicles. *Gastroenterology* 66 (2): 189-203. 1974.

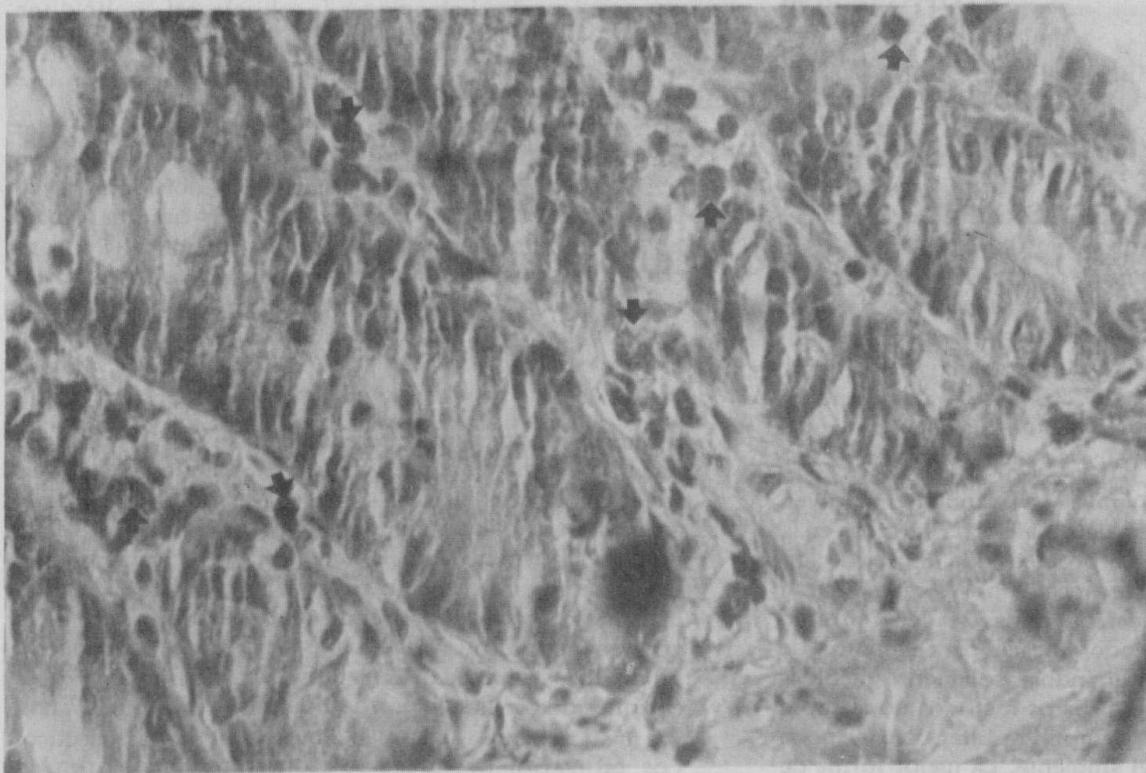


Figura 6.- Es notoria la presencia de eosinófilos (flecha) en la región adyacente a las criptas intestinales (400 X).

- 7 Brantzaeg, Knut B. Immunomorphological characteristics of human Peyer's patches. *Digestion* 46 (suppl 2): 262-273. 1990.
- 8 Ventura J.J., González P.S., Jarillo L.R.A., Campos R.R. Mastocitos en placa de Peyer de ratón. *Arch. Invest. Méd. (Méx)*. 21:139-143. 1990.
- 9 Christopher J.F. Synthesis and secretions of eosinophils granule substances. *Immunology Today* 6(11):332-5, 1985.
- 10 Gleich G.J. and Loegering A.D. Immunobiology of eosinophils *Ann. Rev. Immunol.* 2:429, 1984.
- 11 Peterson CH. B.G., Jornvall Hans and Venge P. Purification and characterization of eosinophil cation protein from normal human eosinophils. *Eur. J. Haematol.* 40:415-423. 1988.
- 12 Benítez B.L. Pérez A.L. and Freyre H.R. Tinción histoquímica para la proteína básica mayor mediante eritrosina B alcalina, en granulocitos eosinófilos y espermatozoides. *Arch. Invest. Med. (Méx)*. 18:213, 1987.
- 13 Bloom Fawcett. Tratado de Histología. Cap. 26: Intestino, pp. 659-660. Ed. Interamericana, 1987.

* Sección de Histología. División Experimental Centro Interdisciplinario de Ciencias de la Salud. I.P.N.

Agradecemos la colaboración del M. en C. Juan Zaragoza A. en la elaboración de las gráficas.