

DISMINUCIÓN EN EL NÚMERO DE MACRÓFAGOS CD14+ ENDOMETRIALES DE CONEJAS TRATADAS CON ACETATO DE MEDROXIPROGESTERONA

Rosas-Velasco C¹, Flores-Pérez I², Castillo Juárez H³, Pérez Martínez M¹.

²Facultad de Ciencias Agropecuarias. Campo Experimental de Desarrollo e Investigación Pecuaria (CEDIA). Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, 62210, Cuernavaca, Morelos México. ivanfloreseperez@ yahoo.com.mx (cuerpo académico producción animal).

¹Departamento de Morfología, Laboratorio de Biología Tisular de la Reproducción, “Rosa Emilia Lavielle”, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México D. F.

³Departamento de Producción Agrícola y Animal. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco. Calzada del Hueso 1100, México 04960, DF.

Palabras clave: acetato de medroxiprogesterona, macrófagos, útero.

INTRODUCCIÓN

El acetato de medroxiprogesterona (MPA) es una progestina sintética utilizada con fines anticonceptivos, en la sincronización de la función ovárica e incluso se le han atribuido efecto antiinflamatorio (Schindler y col., 2003). Se ha utilizado en animales domésticos y en humanos (Aba y col., 1999; Dogan y col., 2004). También se sigue evaluando sus beneficios contra la actividad citotóxica de ciertos agentes

terapéuticos (Montovani y col., 1997, Celebioglu y col., 2003).

Asimismo se ha informado que el MPA puede evitar o inducir el fenómeno de muerte celular programada o apoptosis (Ory y col., 2001, Seeger y col., 2003).

Existen evidencias experimentales que indican que los macrófagos y los linfocitos presentes en el útero pueden ser influenciados por el ambiente hormonal que predomina durante los estadios fisiológicos a los que se

expone este tejido durante el ciclo estral (Hunt 1994; Kaushic y col., 1998).

Los macrófagos son células con capacidad fagocítica que presentan receptores de superficie que los caracterizan, como es el antígeno CD14 para los lipopolisacáridos de las bacterias Gram negativas (Haziot y col., 1988; Wright y col., 1990). Como en otros tejidos, los macrófagos son células fundamentales en el inicio de la respuesta inmunológica en el aparato reproductor (Prakash y col., 2001).

Se ha documentado experimentalmente, mediante el uso de modelos animales, que la progesterona puede incrementar la susceptibilidad de un individuo al ataque de agentes patógenos (Beagley y Gockel, 2003).

Hasta el momento no se han estudiado los efectos del MPA sobre el número de macrófagos endometriales en el modelo del conejo, por lo que el objetivo de este estudio fue detectar y determinar el número de macrófagos CD14+ presentes en el endometrio de conejas ovariectomizadas en días posteriores al tratamiento con MPA.

METODOLOGÍA

Para este estudio se emplearon 15 conejas Nueva Zelanda, que se mantuvieron en condiciones convencionales de bioterio, con agua y comida *ad libitum*. Todas las conejas fueron ovariectomizadas y tres semanas después de la cirugía con estos animales se formaron al azar 5 grupos (3 conejas/grupo) y se administró a cada animal 5 mg de MPA por vía subcutánea. Se sacrificaron los

animales de manera humanitaria a los días 1, 3, 6, 7 y 8 postratamiento. Como grupo testigo se utilizaron tres conejas con ovarios intactos. Inmediatamente después del sacrificio se obtuvo el útero de cada animal y se efectuó su fijación en PFA al 4% para su posterior procesamiento por el método de inclusión en parafina. La detección de los macrófagos se llevó a cabo mediante la técnica de inmunoperoxidasa en cortes de tejido uterino y se utilizaron para este propósito anticuerpos monoclonales comerciales anti CD14.

Las células positivas se tiñeron de color café ocre y se contaron mediante un analizador de imágenes y una cámara conectada a un microscopio fotónico, considerando para este fin 10 campos microscópicos con el objetivo 40X. Las células positivas se buscaron en la lámina epitelial y lámina propia de la mucosa uterina. Se analizaron y compararon los resultados obtenidos del conteo celular para los diferentes grupos con la prueba estadística de Dunn (Graph Pad Prism versión 4.02)

RESULTADOS

La técnica de inmunoperoxidasa empleada permitió detectar a los macrófagos CD14+ en el tejido endometrial de la coneja. Estas células se localizaron principalmente entre las células del epitelio luminal uterino y en el tejido conjuntivo adyacente a la lámina epitelial (Figura 1).

Se observó una disminución interesante, aunque no significativa, en el número de macrófagos CD14+ endometriales en los días 1, 3 y 6 postratamiento con

respecto al grupo testigo y fue en el día 7 postratamiento cuando dicha disminución fue significativa ($P < 0.001$). En el día 8 postratamiento disminuyó el número de células con respecto al grupo testigo de conejas con ovarios intactos (Cuadro 1).

DISCUSIÓN

Es posible que las disminuciones encontradas en el número de macrófagos CD14+ endometriales con respecto al testigo puedan deberse al efecto inhibitor que el MPA posee sobre la proliferación celular y en la expresión de receptores a progesterona (Seeger *et al.*, 2003 y Clinee *et al.*, 2001).

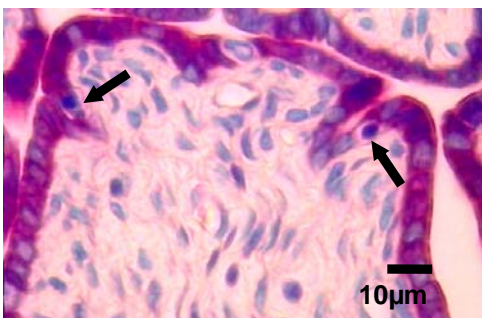
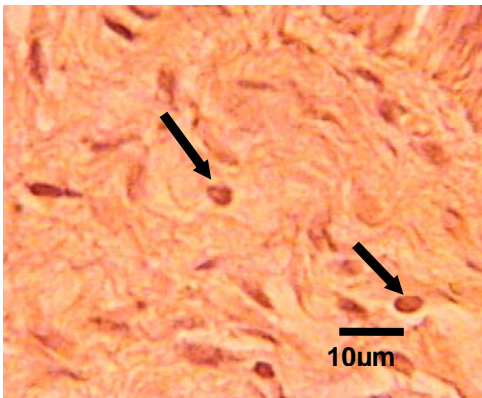


Fig 1. Macrófagos CD14+, en el útero de una coneja tratada con acetato de medroxiprogesterona.

Cuadro 1. Número total de macrófagos CD14 obtenidos a partir del conteo de 10 campos (40x).(n=3)conejas por grupo.

TESTIGO	CELULAS CD14 Días (OVX + MPA)				
	1	3	6	7	8
22	35	24	27	29	17
32	66	38	32	10	26
73	10	28	23	10	11
127	11	90	82	49	54
4.2*	3.7	3	2.7	1.63*	5.13

*Valores expresados en promedio del total de datos para los que se encontraron diferencias significativas al día 7 posterior al tratamiento, ($P < 0.001$) prueba de Dunn.

Se ha propuesto que las progestinas sintéticas tienen la capacidad de afectar negativamente la respuesta inmunitaria en el tracto reproductor femenino, lo que ha sido demostrado en especies como el ratón (Kaushic y col. 2003), así mismo es posible que las progestinas de origen sintético posean un efecto mas prolongado en relación con la progesterona a concentraciones fisiológicas. Por lo anterior es necesario considerar en el análisis de los resultados obtenidos de estudios farmacológicos, factores tales como el tiempo de aplicación y dosis empleada ya que inciden de manera directa en el efecto que una hormona induzca sobre los tejidos blanco.

En especies domésticas productivas y de compañía, las progestinas sintéticas son de uso común por lo que sería conveniente incrementar los estudios encaminados a caracterizar los efectos adversos que estas pudieran inducir sobre el sistema inmunológico de la mucosa uterina.

Los resultados obtenidos del presente estudio nos indican que el MPA administrado a una dosis de 5 mg disminuye el número de macrófagos CD14+ existentes en el endometrio de conejas ovariectomizadas. En investigaciones futuras se podrían emplear otras concentraciones de MPA para evaluar la actividad secretora de estas células a nivel local.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento a la Técnica en histología Maribel Nieto por su apoyo en los cortes histológicos. El presente trabajo fue financiado por el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) (Proyecto IN212101) de la DGAPA-UNAM y al proyecto PROMEP/103.5/04/2862.

LITERATURA CITADA

Schindler A. E., Campagnoli, C., Druckmann, R., Huber, J., Pasqualini, J.R. Schweppe, K.W. and Thijssen, J. H. 2003: Classification and pharmacology of progestins. *Maturitas* 46S1, 7-16.

Aba, M.A., Quiroga, M.A., Auza. N., Forsberg M. and Kindahl, H. 1999: Control of ovarian activity in Llamas (*Lama glama*) with medroxyprogesterone acetate. *Reprod. Dom. Anim.* 34, 471-476.

Dogan, I., Nur, Z., Gunay, U, Soyly, MK. and Sonmez. C. 2004: Comparison of fluorgestone and medroxyprogesterone intravaginal sponges for oestrus

synchronization in Saanen does during the transition period. *South Af. J. of Anim. Science*, 34, 18-22.

Montovani, G., Maccio,A., Esu S., Lai P., Santona M.C, Massa E., Dessi, D., Melis, G.B. and Del Giacco, G.S. 1997: Medroxyprogesterone acetate reduces the in vitro production of cytokines and serotonin involved in anorexia /cachexia and emesis by peripheral blood Mononuclear cells of cancer patients. *Europ J Cancer*, 33, 602-607.

Celebioglu, B.S, Kurtman C., and Ozbilgin, M.K. 2003: The myeloprotective effect of medroxiprogesterone acetate in an irradiated animal model. *Jpn. J. Clin. Oncol.* 33, 642-644.

Ory, K, Lebeau J., Levalois, C. , Bishay, K. , Fouchet, P., Allemand I., Terwath, A., and Chevevillard, S. 2001: Apoptosis inhibition mediated by medroxiprogesterone acetate treatment of breast cancer cell lines. *Breast Cancer Res. Treat.* 68,187-198.

Seeger, H., Wallwiener, D., and Mueck, A. 2003: Comparison of the effect of progesterone, medroxiprogesterone acetate and norxyprogesterone acetate and northisterone on the proliferation of human breast cancer cells. *Journal of the british menopause society*,2003,36-38, .

Hunt, J.,1994: Immunologically relevant cells in the uterus. *Biol Reprod.* 50,461-466.

Kaushic, C., Frauendorf, E. , Rossol, R., Richardson, J and C. Wira,1998: Influence of the oestrous cycle on the presence and distribution of immune

cells in the rat reproductive tract. *Am J Reprod Immunol.* 39, 209-216.

Haziot, A.S. Chen, E. Ferrero, M.G., Low, R. Silber, and Goyert, S.M 1988: The monocyte differentiation antigen, CD14, is anchored to the cell membrane by a phosphatidylinositol linkage. *J. Immunol.* 141, 547-552.

Wright, S.D., Ramos, R.A., Tobias, P.S., Ulevitch, R.J and Mathison, J.C. 1990: CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science.* 249, 1431-1433.

Prakash, M., Patterson S. and Kapembwa, M.S. 2001: Macrophages are increased in cervical epithelium of

women with cervicitis. *Sex. Transm. Inf.* 77, 366-369.

Beagley, W.K., and Gockel, C.M. 2003: Regulation of innate and adaptive immunity by the female sex hormones oestradiol and progesterone. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 38, 13-22.

Cline, J.M., Soderqvist, G., Register, T.C, Williams, J.K., Adams, M.R. and Von Schoultz, B. 2001: Assessment of hormonally active agents in the reproductive tract of female nonhuman primates. *Toxicol. Pathol.* 29, 84-90.

Kaushic, C., Ashkar, A. Reid, L.A. and Rosenthal, K.L. 2003: Progesterone Increases susceptibility and decreases immune responses to genital herpes infection. *J. Virol.* 77, 4558-4565.