



POSITIVIDAD A LAS TÉCNICAS DE PAS Y ALCYAN BLUE EN EL ÓRGANO VOMERO NASAL Y LA MUCOSA DEL TABIQUE NASAL DE LA OVEJA EN ANESTRO.

Núñez Chichet, M E¹; Hawken, P¹; Martin, G¹; Bielli A¹

¹Área Histología y Embriología, Facultad de Veterinaria. ²Universidad de Australia Occidental, Perth, Australia. maeugenu@gmail.com

Resumen

El órgano vomeronasal, órgano tubular quimiorreceptor que detecta feromonas ambientales, posee un epitelio quimiorreceptor y otro epitelio libre de receptores. La secreción de las glándulas tubuloacinares de Jacobson (lámina propia del VNO) vehiculiza feromonas al neuroepitelio. Las glándulas tubuloacinares de Bowman (tejido conjuntivo de la mucosa del tabique nasal), pueden clasificarse en ventrales y dorsales. Se estudió la positividad para las técnicas de PAS y Alcian blue sobre láminas histológicas en: glándulas de Jacobson, glándulas de Bowman ventrales y dorsales, epitelio libre de receptores del VNO y epitelio respiratorio del tabique nasal en 3 grupos de ovejas adultas en anestro superficial: grupo 1: controles; Grupo 2: sacrificadas 2 horas después del contacto con carnero; Grupo 3: sacrificadas 6 horas después del contacto con carnero. La positividad a ambas técnicas tuvo diferencias notorias entre compartimientos histológicos y grupos, lo que sugiere que la presencia de carneros incide sobre la secreción de los epitelios glandulares anexos al VNO.

Introducción

La técnica de PAS (ácido periódico de Schiff) evidencia polisacáridos neutros en color magenta. La técnica de Alcian blue (AB) evidencia polisacáridos ácidos en color cian (Merck KgaA, 2004). El órgano vomeronasal (VNO), órgano par, tubular, quimiorreceptor, se encuentra a ambos lados de la zona ventral del tabique nasal, detecta feromonas y es esencial para la reproducción de los mamíferos (Keverne, 2004). Su luz está tapizada por dos tipos de epitelios: un neuroepitelio con neuronas quimiorreceptoras y un epitelio libre de receptores (ER), pseudoestratificado ciliado. El VNO varía longitudinalmente en su estructura (Vacarezza y col., 1981) y se divide en cuatro regiones diferentes: región 1 (anterior), 2 (anterior - media), 3 (media - caudal) y 4 (caudal). El VNO tiene asociadas glándulas exocrinas de Jacobson (JG) en el tejido conjuntivo subyacente al ER cuya secreción es esencial para que las feromonas contacten con el epitelio quimiorreceptor (Eccles, 1982). Las glándulas tubuloacinares de Bowman de la mucosa del tabique nasal (BG) se clasifican en ventrales y dorsales (Taniguchi y col., 1996). La positividad para las técnicas de PAS y AB varía según la región y compartimiento histológico y entre especies animales. Existe aparentemente cierta especialización regional en la secreción de las glándulas JG y BG, con diferencias entre las especies. Aunque la estructura del VNO del ovino ha sido descrita (Kratzing, 1970) no existe una descripción de las PAS y AB positividad para el ovino.

Por otra parte, en ovinos y caprinos, se comprobó que "el efecto macho" (exposición de hembras en anestro superficial, previo período de aislamiento, a machos sexualmente

activos), depende principalmente de señales olfativas y se traduce en mayor secreción de LH y ovulación sincronizada de las hembras. En las ovejas al parecer el VNO no cumple el papel principal en esta respuesta, a diferencia de lo que sucede en roedores, sino que el responsable de este efecto sería el epitelio olfatorio (Gelez and Fabre-Nys 2004). Hasta donde sabemos, no se ha estudiado la influencia del efecto macho sobre las glándulas anexas al VNO. El objetivo del presente trabajo fue determinar qué efecto tiene la exposición a carneros en ovejas en anestro superficial previamente aisladas de estos sobre las PAS y AB positividad del epitelio del VNO, el epitelio nasal y las glándulas anexas a ambos.

Materiales y Métodos

El experimento fue realizado en la Universidad de Australia Occidental, Perth, Australia. Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Histología y Embriología, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Uruguay. Tres grupos de ovejas adultas en anestro superficial fueron sacrificadas, Grupo 1: sin contacto con carnero (controles); Grupo 2: 2 horas después de tener contacto con carnero; Grupo 3: 6 horas después del contacto con carnero. Las muestras fueron fijadas por inmersión (formol bufferado al 4% pH = 7,2), descalcificadas (35 ml ácido fórmico en 65 ml de solución acuosa de citrato al 20%). Las muestras fueron seccionadas y el VNO dividido en cuatro piezas. Se evaluó la región 2 del VNO. Las muestras fueron procesadas histológicamente y seccionadas en serie generando 10 láminas/animal. Las primeras 5 secciones fueron tratadas con PAS y las siguientes 5 con AB (Merck KgaA, 2004). Las láminas histológicas fueron evaluadas a ciegas con un sistema semicuantitativo (0, 1, 2 ó 3 cruces) en un microscopio de luz (Olympus BX 50, Tokio, Japón) a 400x. La positividad de la tinción fue evaluada en 6 estructuras histológicas: JG, VBG, DBG, RE y NRE.

Resultados

Las JG se diferenciaron en 2 grupos, uno, muy PAS y AB positivo, eran glándulas de luz amplia y epitelio bajo (grupo A). El resto de las JG tuvo escasa reacción positiva con las 2 técnicas; estas glándulas tenían poca luz y células altas (grupo B).

Técnica de PAS: JG: Grupo 1: las A fueron muy positivas. Las B tuvieron positividad menor. Grupo 2: las A tuvieron positividad mayor que las B pero en menor intensidad que lo observado en el grupo 1. Grupo 3: las A y las B tuvieron positividad similar a las del grupo 1. RE: Grupo 1 y 3: glándulas unicelulares muy positivas; la positividad de estas células en el Grupo 2 fue menor. NRE: Grupos 1, 2 y 3: gran positividad. VBG: grupos 2 y 3 con mayor positividad que lo observado en el grupo 1. DBG: los tres Grupos tuvieron baja positividad.



Técnica de Alcyan Blue: JG: en las A los 3 grupos estudiados presentan una positividad de media. En las B los grupos 1 y 2 se observan con una positividad baja, mientras que el grupo 3 se observa menos positivo. RE: grupo 1: mayor positividad que grupos 2 y 3. NRE: grupos 2 y 3 con gran positividad, mientras el grupo 1 la presentó más moderadamente. VBG: grupos 1 y 2 con gran positividad mientras que el grupo 2 fue más débil. DBG: grupo 1 y 3 positividad escasa, grupo dos negativo con esta técnica.

Discusión y Conclusiones

En términos generales, hubo diferencias notorias entre distintos sectores glandulares que fueron consistentes entre los distintos grupos, lo que sugiere que la secreción de las JG de tipo A y el RE es más intensa que en otros sectores glandulares. Por otra parte, notorias diferencias entre grupos sugieren que la intensidad histoquímica a los mucopolisacáridos es menor en el grupo 2 (dos horas después de haber sido expuesta la oveja a carneros) que antes de estar expuesta (grupo 1) o 6 horas después. Esto indicaría que la exposición a carneros tras un período de aislamiento provoca un aumento en la liberación de mucopolisacáridos que disminuiría los contenidos citoplasmáticos en el grupo 2. Las claras diferencias encontradas en este análisis subjetivo indican la necesidad de realizar evaluaciones cuantitativas exhaustivas para cuantificar y precisar estas diferencias.

Summary

The vomeronasal organ, atubular pheromone detecting organ, has both chemoreceptor and receptor-free epithelia. The secretion of the tubuloacinary Jacobson glands in the VNO lamina propria transports pheromones to the neuroepithelium. The tubuloacinary Bowman glands in the stromal mucosa of the nasal septum are classified as ventral and dorsal. The positivity to PAS and Alcyan blue techniques

was evaluated on histological slides from Jacobson glands, dorsal and ventral Bowman glands, receptor-free VNO epithelium and respiratory epithelium of the nasal septum in three groups of adult ewes in superficial anestrous: Group 1: controls; Group 2: slaughtered 2 hs after contacting a ram; Grupo 3: slaughtered 6 hs after contacting a ram. Positivity to both techniques was notoriously different among histological compartments and experimental groups, suggesting ram presence influences the secretion of the glandular epithelia neighbouring the VNO.

Bibliografía

Eccles R. 1982 Autonomic innervation of the vomeronasal organ of the cat. *Physiol Behav* 28: 1011-1015.

Gelez H, Fabre-nys C. The "male effect" in sheep and goats: a review of the respective roles of the two olfactory systems. *Horm behave*. 2004 Sep;46(3):257-71.

Kratzing, J. 1971. The vomeronasal organ in the sheep. *J. Anat.* 108(2):247-260

Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Alemania, tel.: +49 6151 72 -0 <http://www.merck-express.com/servlet/PB/show/1277910/109033107509es.pdf>. Abril 2004

Taniguchi K., Arai T., Ogawa. 1993. Fine Estructure of Septal Olfactory Organ of Maser and its Associated Gland in the Golden Hamster. *J. Vet. Med. Sci.* 55(1): 107-116.

Taniguchi K., Toshima Y., Saito TR., Taniguchi K. 1996. Development of the Bowman's and Jacobson's glands in the Japanese reddish frog, *Rana japonica*. *J Vet Med Sci.*, 58(1):17-22.

Vaccarezza O., Spich L., Tramezzani J. 1981. The vomeronasal organ of the rat. *J. Anat.* 132 (2): 167-185.