

VIII JORNADA DE DIFUSIÓN DE LA INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN – FCV-UNL

RESUMEN EXTENDIDO

ESTUDIO MORFOLÓGICO DEL ENDOMETRIO EN LA GATA DOMÉSTICA (*FELIS SILVESTRIS CATUS*): DATOS PRELIMINARES

Coralli FL¹, Praderio RG^{1,2}, García Mitacek MC^{1,2}, García MF^{1,2}, Stornelli MA¹.

¹Cátedra Reproducción Animal. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata.

²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina.

* Correspondencia: Corelli FL. E-mail: astornel@fcv.unlp.edu.ar

Editado por: R. Sobrero, C. Baravalle y V. Matiller.

RESUMEN.

Existen escasos estudios sobre la ocurrencia y prevalencia de afecciones endometriales subclínicas en gatas. El objetivo fue realizar un estudio citológico, histológico y morfométrico del endometrio normal felino. Se estudiaron gatas mestizas, en las cuales se tomaron muestras de citología vaginal, sangre, citología endometrial y biopsias de ambos cuernos uterinos. Las gatas se dividieron en tres grupos (G) según la fase del ciclo estral. G Inactiva (GI, n = 7), G folicular (GF, n = 2) y G lútea (GL, n = 1). El estudio histológico mostró endometrio normal (EN, n = 8; 7 GI y 1 GF), endometritis (n = 1, GF), hiperplasia quística de endometrio (n = 1; GL). Las concentraciones séricas de E₂ y P₄ en GI, GF y GL fueron: E₂ 10.30 ± 0.25, 12 y 10 pg / mL y P₄ 0.58 ± 0.10, 0.31 y 9 ng / mL respectivamente. En el estudio citológico endometrial del endometrio normal se registró un porcentaje de PMN de 16,04 ± 2,87. El estudio de las biopsias uterinas, en EN mostró pliegues longitudinales de la mucosa, epitelio endometrial intacto firmemente adherido a la membrana basal, tejido estromal con escasa infiltración de leucocitos (0 a 3 leucocitos por campo) y glándulas endometriales con actividad secretora. En el EN se registró un grosor endometrial de 472,83 ± 99,05 µm y una altura de las células glandulares de 15,10 ± 4,93 µm. No hubo diferencias entre los cuernos uterinos. El conocimiento de las características histológicas, citológicas y morfométricas del endometrio felino normal permitirá mejorar la aproximación diagnóstica de las afecciones subclínicas del endometrio.

Palabras clave: gata, endometrio, morfometría

MORPHOLOGICAL STUDY OF THE ENDOMETRIUM IN THE DOMESTIC CAT (*FELIS SILVESTRIS CATUS*): PRELIMINARY DATA.

SUMMARY.

There are few studies on the occurrence and prevalence of subclinical endometrial disorders in cats. The objective was to carry out a cytological, histological, and morphometric study of the normal feline endometrium. Mixed-breed female cats were studied, in which vaginal cytology, blood, endometrial cytology, and biopsies were taken from both uterine horns. The cats were divided into three groups (G) according to the phase of the estrous cycle. G Inactive (GI, n = 7), G follicular (GF, n = 2) and G luteal (GL, n = 1). The histological study showed normal endometrium (EN, n = 8; 7 GI and 1 GF), endometritis (n = 1, GF), cystic endometrial hyperplasia (n = 1; GL). The serum concentrations of E₂ and P₄ in GI, GF and GL were: E₂ 10.30 ± 0.25, 12 and 10 pg / mL and P₄ 0.58 ± 0.10, 0.31 and 9 ng / mL respectively. In the endometrial cytological study of the normal endometrium (EN), a PMN percentage of 16.04 ± 2.87 was recorded. The study of uterine biopsies in EN showed longitudinal folds of the mucosa, intact endometrial epithelium firmly adhered to the basement membrane, and stromal tissue with little infiltration of leukocytes (0 to 3) per field and endometrial glands with secretory activity. The EN showed an endometrial thickness of 472.83 ± 99.05 µm and a glandular cell height of 15.10 ± 4.93 µm. There were no differences between the uterine horns. Knowledge of the histological, cytological, and morphometric characteristics in feline normal endometrium will improve the diagnostic approach of subclinical endometrial affections.

La endometritis subclínica (ES) es una afección endometrial que provoca disminución de la eficiencia reproductiva en hembras bovinas y equinas (Gilbert et al., 2005; Le Blanc y Causey, 2009; Madoz et al., 2014). Estudios recientes realizados en perras mostraron que la ES tiene una incidencia mayor a lo que se creía hace una década atrás, siendo la hiperplasia endometrial quística (HEQ) una afección de menor prevalencia que la ES (Mir et al., 2013; Gifford et al., 2014; Praderio et al., 2019). En la gata, existen escasos trabajos sobre la ocurrencia y prevalencia de afecciones endometriales subclínicas (Binder et al., 2020; Marti et al., 2021) y algunos autores comunicaron que el estudio de la ES en felinos es dificultoso (Axner et al., 2008; Fontbonne et al., 2020), al igual que en la perra (Praderio et al., 2021). En una revisión reciente se ha manifestado la importancia de la realización de estudios reproductivos en pequeños animales en relación a la importancia que ha tomado la reproducción de animales de compañía en las dos últimas décadas (Fontbonne, 2020).

Se han estudiado diferentes técnicas para el diagnóstico de endometritis en diferentes especies (Nielsen et al., 2005; Fontaine et al., 2009; Mir et al., 2013; Overveck et al., 2011; Madoz et al., 2014; Praderio et al., 2019; Bukowska et al., 2020). Sin embargo, técnicas de diagnóstico más sencillas y mecanismos fisiopatológicos siguen siendo líneas de estudio.

Los cambios uterinos que ocurren en las afecciones endometriales subclínicas se localizan en la capa más superficial del útero observándose infiltración de células inflamatorias, cambios degenerativos de las células epiteliales del endometrio con o sin descamación de estas células hacia la luz uterina (Fontaine et al., 2009). Considerando lo ocurrido en las especies mencionadas, la ocurrencia de afecciones endometriales subclínicas (AES) en felinos podría ser una entidad que afecte en forma importante la reproducción y ser el paso inicial para una afección uterina más grave, tanto en gatas mascotas como en animales de criaderos o colonias. Por lo tanto, la realización de estudios endometriales en hembras felinas clínicamente sanas, permitirían tener un patrón histológico normal como referencia para estudios de ocurrencia de AES en la gata, los cuales hasta hoy son desconocidos.

El objetivo fue realizar un estudio citológico, histológico y morfométrico del endometrio normal felino.

Se estudiaron gatas mestizas (n=10), de pelo corto, clínicamente sanas, con un peso entre 2-3 kg y una edad entre 7 meses y 5 años incluidas en un plan municipal de control de la reproducción. Una vez ingresadas al centro de castraciones y antes de realizar la ovariectomía (OVH) se tomó una muestra de citología vaginal y una muestra de sangre para

confirmar la etapa del ciclo reproductivo de la hembra. Las muestras de sangre se centrifugaron y el suero se almacenó a -20°C hasta que se realizó la medición de la concentración de estradiol (E₂) y progesterona (P₄) sérica mediante quimioluminiscencia (Eleclys®, Roche, Alemania).

Después de la OVH se recolectaron biopsias de ambos cuernos uterinos y muestras para estudio citológico endometrial. Las muestras para citología endometrial se obtuvieron con *cytobrush*, se tiñeron con Tinción 15° (Biopur S.R.L., Rosario, Argentina), se evaluaron al microscopio óptico a 400X y se contaron 200 células para determinar el porcentaje de leucocitos polimorfonucleares neutrófilos (PMNL). Para el estudio histológico, las biopsias uterinas de 0,4 cm de diámetro se fijaron en una solución de formalina tamponada al 10%, se incluyeron en parafina, se seccionaron con micrótopo, se tiñeron con H&E y luego se examinaron con un microscopio a 100X y 400X (Schlafer y Miller, 2007). En las biopsias se realizó la medición del grosor del endometrio (GE) y la altura de las células glandulares (ACG) mediante el software para análisis de imágenes Image J. En cada muestra, se realizaron 10 mediciones del GE con aumentos de 400X (Figura 1a y 1b). Además, observando a aumentos de 600X, se registró la altura de 10 CG por campo en 5 campos del endometrio seleccionados al azar (Figura 2). El experimento se realizó respetando y de acuerdo con las recomendaciones sobre el cuidado y uso de animales de laboratorio del CICUAL de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP (Resolución: 100-6-19T).

Las gatas se dividieron en tres grupos (G) según la fase del ciclo estral. G Inactiva (GI, n = 7), G folicular (GF, n = 2) y G lútea (GL, n = 1). El estudio histológico mostró endometrio normal (EN, n= 8; 7 GI y 1 GF), endometritis (E, n= 1, GF), hiperplasia quística de endometrio (n = 1; GL). Las mediciones de las concentraciones séricas de E₂ y P₄ se expresan en la Tabla 1.

Observaciones microscópicas en las biopsias uterinas de endometrio normal:

El endometrio normal mostró pliegues longitudinales de mucosa, epitelio endometrial luminal intacto firmemente adherido a la membrana basal. El tejido estromal presentó escasa infiltración de leucocitos (0 a 3 por campo) y glándulas con actividad secretora. La ACG fue $15,10 \pm 4,93$ ACG μm y el GE μm $472,83 \pm 99,05$. El porcentaje de PMNL en la citología endometrial en EN fue de $16,04 \pm 2,87$. Todos los úteros incluidos en el estudio morfométrico presentaron los dos cuernos normales.

Tabla 1. Concentraciones séricas de E₂ y P₄ en los Grupos Inactivo, Folicular y Lúteo.

	GI	GF	GL
P4 (ng/mL)	0,58 ± 0,10	0,31	9
E2 (pg/mL)	10,30 ± 0,25	12	10

Se han realizado escasos estudios de morfometría y citología endometrial en hembras felinas (Chatdarong et al., 2005; da Silva et al., 2015; Binder et al., 2020; Marti et al., 2021). En el presente trabajo las concentraciones de E₂ y P₄ para los diferentes grupos de gatas fueron similares a los comunicados por Chatdarong et al. (2005). Asimismo, la imagen histológica del endometrio normal concuerda con descripciones previas (Chatdarong et al., 2005; da Silva et al., 2015). Por otra parte, las mediciones de GE y la ACG obtenidas en el GL y GF se encuentran dentro de los valores comunicados por Chatdarong et al. (2005).

Se ha observado en gatas clínicamente sanas un alto porcentaje de PMNL en la citología endometrial comparado con hembras de otras especies, incluso cuando no existe evidencia de inflamación en la histología uterina (da Silva et al., 2015; Marti et al., 2021). Los resultados obtenidos en nuestro trabajo en relación a la citología endometrial coinciden con lo observado por los mencionados autores.

El conocimiento de las características histológicas, citológicas y morfométricas del endometrio felino normal permitirá mejorar la aproximación diagnóstica de las afecciones subclínicas del endometrio.

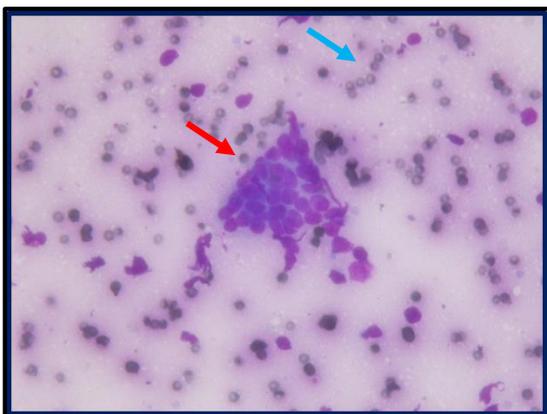


Figura 1a. Citología endometrial de felino, Tinción 15; [40X]. Células del epitelio endometrial descamadas en grupo (flecha roja), eritrocitos (flecha celeste).



Figura 1b. Medición del GE en endometrio normal de gata (400X, H&E).

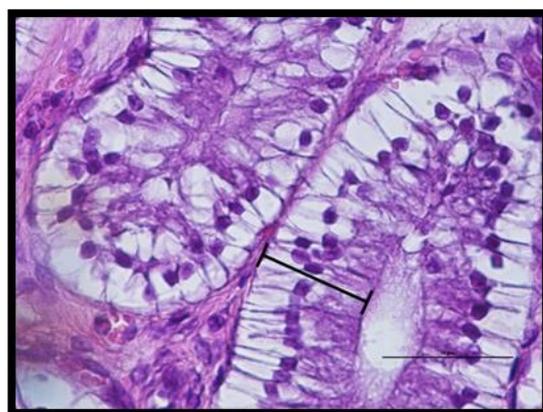


Figura 2. Medición de ACG en endometrio normal de gata (600X, H&E).

Bibliografía

Axnér E, Agren E, Baverud V, Holst BS. 2008. Infertility in the cycling queen: Seven cases. *J. Feline Med. Surg.* 10(6): 566-576.

Binder C, Reifinger M, Aurich J, Aurich C. 2020. Histopathological findings in the uteri and ovaries of clinically healthy cats presented for routine spaying. *Journal of Feline Medicine and Surgery.* 23(8): 770-776.

Bukowska B, Jurczak A, Tobolski D, Janowski T. 2020. Prevalence of subclinical uterine pathologies diagnosed by biopsy and cytological and bacteriological findings in cyclic bitches. *Polish Journal of Veterinary Sciences* Vol. 23, No. 4:595-603.

Chatdarong K, Rungsipipat A, Axnér E, Forsberg CL. 2005. Hystero-graphic appearance and uterine histology at different stages of the reproductive cycle and after progestagen treatment in the domestic cat. *Theriogenology*, 64: 12-29.

- CIOMS. 2012. International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals. In: Science, C.f.I.O.o.M.S.-T.I.c.f.L.A. (Ed.).
- da Silva BF, Silva NC, dos Santos TR, de Oliveira AP, Headley SA, Medeiros AA, Mota FCD, Lima CADP, Saut JPE. 2015. Citologia e histologia endometrial em gatas clinicamente saudáveis. *Bioscience Journal*. 31(2): 555-562.
- Fontaine E, Levy X, Grellet A, A Luc A, Bernex F, Boulouis HJ, Fontbonne A. 2009. Diagnosis of endometritis in the bitch: a new approach. *Reprod Dom Anim*. 44: 196-199.
- Fontbonne A, Prochowska S, Niewiadomska Z. 2020. Infertility in purebred cats-A review of the potential causes. *Theriogenology*. 158: 339–345.
- Fontbonne A. 2020. Small animal reproduction: Scientific facts versus dogmas or unverified beliefs. *Theriogenology*. [150](#): 464-470.
- Gifford AT, Scarlett JM, Schlafer DH. 2014. Histopathologic findings in uterine biopsy samples from subfertile bitches: 399 cases (1990-2005). *J Am Vet Med Assoc*. 244: 180-186.
- Gilbert RO, Shin ST, Guard CL, Erb HN, Frajblat M. 2005. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*. 64: 1879-1888.
- LeBlanc MM, Causey RC. 2009. Clinical and subclinical endometritis in the mare: Both threats to fertility. *Reprod Dom Anim*. 44: 10-22.
- Madoz LV, Giuliadori MJ, Migliorisi AL, Jaureguiberry M, de la Sota RL. 2014. Endometrial cytology, biopsy, and bacteriology for the diagnosis of subclinical endometritis in grazing dairy cows. *J. Dairy Sci*. 97 :195–20.
- Martí A, Serrano A, Pastor J, Rigau T, Petkevičiūtė U, Calvo MA, Arosemena EL, Yuste A, Prandi D, Aguilar A, Rivera del Alamo MM. 2021. Endometrial Status in Queens Evaluated by Histopathology Findings and Two Cytological Techniques: low-volume uterine lavage and uterine swabbing. *Animals*. 11, 88.
- Mir F, Fontaine E, Albaric O, Greer M, Vannier F, Schlafer DH, Fontbonne A. 2013. Findings in uterine biopsies obtained by laparotomy from bitches with unexplained infertility or pregnancy loss: an observational study. *Theriogenology*. 79(2):312–322.
- Nielsen JM. 2005. Endometritis in the mare: a diagnostic study comparing cultures from swab and biopsy. *Theriogenology*. 64: 510–518.
- Overbeck W, Witte TS, Heuwieser S. 2011. Comparison of three diagnostic methods to identify subclinical endometritis in mares. *Theriogenology*. 75: 1311-1318.
- Praderio RG, García Mitacek MC, Núñez Favre R, Rearte R, de la Sota RL, Stornelli1, MA. 2019. Uterine endometrial cytology, biopsy, bacteriology, and serum C-reactive protein in clinically healthy diestrus bitches. *Theriogenology*. 131:153-161.
- Praderio RG, García Mitacek MC, García MF, Coralli FL, Stornelli MA. 2021. Endometritis en perras clinicamente sanas: una nueva percepción sobre las afecciones uterinas. *Clínica Veterinaria de pequeños animales*. 41(2): 75-82
- Schlafer DH, Miller R. 2007. Pathology of the female reproductive system. En: Maxie MG ed. *Jubb Kennedy and Palmer's pathology of domestic animals*. 5th. Edition. Elsevier Saunders, St. Louis, Missouri. 3: 429-564.