

Caracterización Uterina en Líneas de Selección Divergente para Variabilidad del Peso al Nacimiento en Ratón

Uterine Characterization in a Divergently Experiment for Birth Weight Environmental Variability in Mice

Miguel de la Flor García y Nora Formoso-Rafferty Castilla

Universidad Complutense de Madrid

Resumen

La reducción de la variabilidad ambiental por selección genética es de gran importancia para obtener beneficios en las explotaciones ganaderas. Se ha comprobado que dicha variabilidad está íntimamente relacionada con la homogeneidad. Por ello, el objetivo de este trabajo fue comparar características macroscópicas e histológicas del tracto reproductivo de dos líneas divergentes de ratón seleccionadas por su variabilidad al peso al nacimiento. Se observaron diferencias significativas para los pesos del útero, del cuerno uterino derecho e izquierdo en ambas líneas. Igualmente, para la longitud media del parénquima en el cuerno izquierdo pudiendo explicar el peso del útero. Sin embargo, en las glándulas endometriales no se observaron diferencias significativas, aunque serán necesarios estudios futuros que completen los resultados obtenidos.

Palabras clave: eficiencia reproductiva, selección divergente, ratón, mejora genética.

Abstract

Reduction of environmental variability by genetic selection has being great importance to produce an increase in agro-livestock profitability. It has been proven that such environmental variability is closely related to homogeneity. Therefore, the objective of this work was compare macroscopic and histological characteristics of the reproductive tract in a divergently experiment for birth weight environmental variability in mice. Significant differences between lines were observed in the uterus weight and in both horns. Equally, for the average length of the parenchyma in left horn which may explain the weight of the uterus. Regarding the endometrial glands, no significant differences were observed between lines, although future studies will be necessary to complete these results.

Keywords: reproductive efficiency, divergently experiment, mice, genetic progress.

Trabajo presentado en las XII Jornadas Complutenses, XI Congreso Nacional de Investigación en Ciencias de la Salud para Alumnos Pregraduados y XVI Congreso de Ciencias Veterinarias y Biomédicas.

El estudio se ha realizado con una financiación parcial a través de un proyecto MEC-INIA (RTA2014-00015-C02-02). Este experimento ha sido parcialmente financiado mediante un proyecto del Plan Nacional (AGL2008-00794).

Introducción

Uno de los objetivos de la selección genética en las explotaciones ganaderas, es la búsqueda de la homogeneidad de caracteres de interés productivo, pudiendo reducir los efectos negativos causados por la selección tradicional para el aumento de la producción (Bolet et al., 2007). Producciones más homogéneas, se asocian con una mejora en el bienestar animal (Mormede y Terenina, 2012) y una mayor rentabilidad (Bolet et al., 2007). Por lo tanto, el uso de programas de selección genética para homogeneidad del peso al nacimiento o PN (Formoso-Rafferty, Cervantes, Ibáñez-Escriche, y Gutiérrez, 2015; 2016), repercutirá positivamente. Estudios previos han demostrado que, entre líneas divergentes de ratones, existen diferencias en parámetros reproductivos que pueden ser claves en la homogeneidad de la camada (Pallares, Fernández-Valle, y González-Bulnes, 2009; Stewart et al., 2011). Otros autores han mostrado que la longitud y capacidad de elongación uterina es distinta, siendo ambos parámetros superiores en la línea seleccionada para el carácter de homogeneidad para el PN (Bolet et al., 2007). Entre otros posibles parámetros reproductivos a estudiar en relación con la homogeneidad del PN se encuentra la adenogénesis endometrial, la cual es crítica para el desarrollo uterino en gestación y determina, en parte, el potencial embriotrófico en el útero adulto (Gray et al., 2001). Por todo ello, el objetivo de este trabajo fue comparar los hallazgos macroscópicos e histológicos del tracto reproductor femenino en dos líneas divergentes para la variabilidad ambiental del PN en ratones.

Material y métodos

Los animales utilizados en este estudio se obtuvieron tras siete generaciones de un experimento de selección divergente para variabilidad ambiental del PN en ratón (Formoso-Rafferty et al., 2016). En la generación 7, se escogieron al azar un total de 24 hembras adultas no gestantes, 12 para cada línea (alta variabilidad –A– y baja variabilidad –B–), que hubieran tenido dos partos anteriormente. Previamente, todas las ratonas se pesaron individualmente y a continuación se sacrificaron según RD 53/2013, con el fin de realizar un estudio macroscópico e histológico del tracto re-

productor. Dicho estudio consistió en pesar mediante una balanza de precisión el útero completo y los cuernos uterinos por separado. Además, se midió la longitud de ambos cuernos desde la unión útero-tubal hasta la bifurcación uterina. De cada cuerno se tomaron muestras de la porción proximal, media y distal, respecto al ovario. Las muestras recogidas se fijaron en paraformaldehído diluido al 4% en tampón fosfato (PBS, *Phosphate Buffered Saline*, pH 7,4) durante 24h. A continuación, se lavaron en PBS durante 30 minutos y se almacenaron en etanol diluido al 70% en agua destilada hasta ser incluidos en bloques de parafina. Los cortes histológicos fueron procesados en el servicio de histología del Centro Nacional de Biotecnología (CNB) para efectuar los estudios morfométricos. Las imágenes histológicas fueron estudiadas en cortes de hematoxilina eosina en un microscopio de campo claro (*Olympus Bx40*) a 10x y 20x y mediante un sistema de análisis de imagen (*Image J*). El análisis estadístico se realizó mediante el software *STAT-GRAPHICS Centurion XVI (versión 16.2.04)*, para comparar los resultados entre ambas líneas mediante una prueba *t de Student*.

Resultados y discusión

Como muestra la tabla 1 se apreciaron diferencias significativas entre los animales de ambas líneas para peso total del útero, peso del cuerno uterino izquierdo y derecho, siendo menor en todos los casos para las hembras de la línea B ($P < 0.05\%$). Una posible causa podría ser el menor peso de las hembras en la línea B frente a las de la línea A (33,84 g y 40,78 g respectivamente). Sin embargo, la longitud de los cuernos uterinos y el número de glándulas endometriales (tabla 2), fue similar entre líneas. Las glándulas endometriales están implicadas en la nutrición del embrión, por lo tanto, el número de glándulas está relacionado con el desarrollo embrionario y la supervivencia fetal (Dey et al., 2004). Los tamaños de camada medios en el parto previo de las hembras estudiadas en esta muestra fueron de 10 y 9 para la línea de B y A, respectivamente.

En cuanto a parámetros relacionados con la luz uterina, parénquima y endometrio (Tabla 3), se encontraron diferencias para la longitud media del parénquima para el cuerno uterino en su zona proximal, siendo menor en el

Tabla 1

Medias y desviaciones estándar para los individuos de A y B, para el Peso Total del Útero (PTU), Peso del Cuerno Úterino Izquierdo (PCUI), Peso del Cuerno Úterino Derecho (PCUD), Longitud del Cuerno uterino Izquierdo (LCI), Longitud del Cuerno uterino Derecho (LCD). Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa $p < 0,05$.

	PTU (g)	PCUI (g)	PCUD (g)	LCI (mm)	LCD (mm)
A	0,23 ± 0,09 a	0,15 ± 0,20 a	0,10 ± 0,04 a	24,72 ± 5,22 a	23,43 ± 4,64 a
B	0,15 ± 0,05 b	0,08 ± 0,03 b	0,07 ± 0,03 b	27,07 ± 6,04 a	23,65 ± 4,80 a

Tabla 2

Medias y desviaciones estándar para los individuos A y B, para el número de glándulas endometriales del Útero Total (UT), Cuerno Úterino Derecho (CUD), Cuerno Úterino Izquierdo (CUI), Cuerno Uterino Derecho proximal (CUDp), Cuerno Uterino Derecho medio (CUDm), Cuerno Uterino Derecho distal (CUDd), Cuerno Uterino Izquierdo proximal (CUIp), Cuerno Uterino Izquierdo medio (CUIm) y Cuerno Uterino Izquierdo distal (CUID).

	UT	CUD	CUI	CUDp	CUDm	CUDd	CUIp	CUIm	CUID
A	162,00 ± 66,57	74,92 ± 40,16	87,08 ± 31,16	14,58 ± 11,54	30,83 ± 16,88	29,50 ± 19,16	24,50 ± 17,67	34,33 ± 16,75	28,25 ± 13,14
B	147,00 ± 52,21	79,00 ± 35,39	68,00 ± 24,43	24,25 ± 15,14	29,92 ± 18,40	24,83 ± 15,81	15,83 ± 8,42	26,25 ± 12,43	25,92 ± 15,22

Tabla 3

Medias y desviaciones estándar para los individuos de A y B, para la luz uterina (L), el parénquima uterino (P), el ratio endometrio/parénquima (REP) y el área del endometrio (AE), en los cuernos uterinos derecho e izquierdo, en sus porciones proximal, media y distal. Letras diferentes en la misma fila indican diferencia significativa $p < 0,05$.

	CUDp		CUDm		CUDd		CUIp		CUIm		CUID	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
L(μm)	808 ± 283 a	613 ± 307 a	621 ± 166 a	520 ± 260 a	649 ± 251 a	584 ± 268 a	825 ± 318 a	544 ± 247 a	732 ± 216 a	597 ± 255 a	743 ± 246 a	614 ± 333 a
P(μm)	2297 ± 231 a	1991 ± 553 a	2319 ± 223 a	1848 ± 651 a	2380 ± 345 a	2013 ± 717 a	2388 ± 254 a	1836 ± 595 b	2250 ± 272 a	2037 ± 817 a	2323 ± 382 a	2090 ± 796 a
REP	0,41 ± 0,12 a	0,41 ± 0,15 a	0,57 ± 0,57 a	0,50 ± 0,08 a	0,41 ± 0,08 a	0,40 ± 0,06 a	0,41 ± 0,10 a	0,48 ± 0,09 a	0,47 ± 0,07 a	0,47 ± 0,07 a	0,45 ± 0,10 a	0,46 ± 0,07 a
AE(μm²)	1,0·10 ⁶ ± 6,3·10 ⁵ a	8,9·10 ⁵ ± 6,4·10 ⁵ a	9,8·10 ⁵ ± 3,1·10 ⁵ a	8,6·10 ⁵ ± 6,0·10 ⁵ a	1,1·10 ⁶ ± 4,8·10 ⁵ a	8,5·10 ⁵ ± 6,4·10 ⁵ a	1,1·10 ⁶ ± 3,1·10 ⁵ a	8,0·10 ⁵ ± 5,4·10 ⁵ a	1,1·10 ⁶ ± 5,3·10 ⁵ a	8,5·10 ⁵ ± 4,8·10 ⁵ a	1,2·10 ⁶ ± 5,2·10 ⁵ a	9,4·10 ⁵ ± 6,5·10 ⁵ a

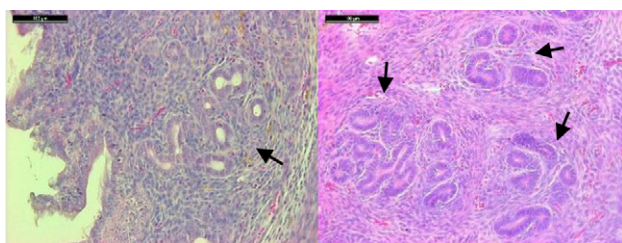


Figura 1. Glándulas endometriales (flechas) en un corte histológico de útero de ratona teñido con hematoxilina-eosina.

caso de las hembras de baja variabilidad, pudiendo explicar el menor peso del útero. Al contrario que con la longitud media de la luz, el área del endometrio y la ratio endometrio/parénquima, donde no se apreciaron diferencias entre líneas.

Conclusión

Las diferencias encontradas pueden ser a causa de la selección divergente realizada. Se necesitarán estudios futuros del miometrio y perimetrio, y su relación con el parénquima.

Referencias

- Bolet, G., Garreau, H., Joly, T., Theau-Clement, M., Falières, J., Hurtaud, J., & Bodin, L. (2007). Genetic homogenisation of birth weight in rabbits: Indirect selection response for uterine horn characteristics. *Livestock Science*, *111*(1-2), 28-32.
- Dey, S. K., Lim, H., Das, S. K., Reese, J., Paria, B. C., Daikoku, T., & Wang, H. (2004). Molecular cues to implantation. *Endocrine Reviews*, *25*(3), 341-373. <http://doi.org/10.1210/er.2003-0020>
- Formoso-Rafferty, N., Cervantes, I., Ibáñez-Escriche, N., & Gutiérrez, J. (2016). Genetic control of the environmental variance for birth weight in seven generations of a divergent selection experiment in mice. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, *133*(3), 227-237. <http://doi.org/10.1111/jbg.12174>
- Formoso-Rafferty, N., Cervantes, I., Ibáñez-Escriche, N., & Gutiérrez, J. P. (2016). Correlated genetic trends for production and welfare traits in a mouse population divergently selected for birth weight environmental variability. *Animal*, *10*(11), 1770-1777. <http://doi.org/10.1017/s1751731116000860>

- Gray, C. A., Bartol, F. F., Tarleton, B. J., Wiley, A. A., Johnson, G. A., Bazer, F. W., & Spencer, T. E. (2001). Developmental biology of uterine glands. *Biology Of Reproduction*, *65*(5), 1311-1323. <https://doi.org/10.1095/biolreprod65.5.1311>
- Mormede, P. & Terenina, E. (2012). Molecular genetics of the adrenocortical axis and breeding for robustness. *Domestic Animal Endocrinology*, *43*(2), 116-131. <http://doi.org/10.1016/j.domaniend.2012.05.002>
- Pallares, P., Fernández-Valle, M., & González-Bulnes, A. (2009). In vivo virtual histology of mouse embryogenesis by ultrasound biomicroscopy and magnetic resonance imaging. *Reproduction, Fertility and Development*, *21*(2), 283-292. <http://doi.org/10.1071/rd08124>
- Stewart, C. A., Fisher, S. J., Wang, Y., Stewart, M. D., Hewitt, S. C., Rodríguez, K. F. ... Behringer, R. R. (2011). Uterine gland formation in mice is a continuous process, requiring the ovary after puberty, but not after parturition. *Biology of Reproduction*, *85*(5), 954-964. <http://doi.org/10.1095/biolreprod.111.091470>