



Biopsia endometrial en camélidos: Técnica e interpretación

Ahmed Tibary y Agustín Ruiz

Servicio de Teriogenología Comparativa, Departamento de Ciencias Clínicas Veterinarias.
Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Estatal de Washington, Pullman, WA, EE. UU.

Abstract

Endometrial biopsy is considered the gold standard in the evaluation of uterine health. The present paper described the technique used in llamas, alpacas and camels as well as histological interpretation. Data are still lacking as to the correlation between the biopsy classification and ability of the female to carry a pregnancy to term.

Keywords: Uterus, pathology, infertility, subfertility

Resumen

La biopsia endometrial se considera el estándar de oro en la evaluación de la salud uterina. El presente trabajo describe la técnica utilizada en llamas, alpacas y camellos, así como la interpretación histológica. Todavía faltan datos sobre la correlación entre la clasificación de la biopsia y la capacidad de la hembra para llevar un embarazo a término.

Palabras clave: Útero, patología, infertilidad, subfertilidad.

Introduction

La biopsia endometrial, llamada erróneamente "biopsia uterina", se considera la técnica estándar para el diagnóstico de patologías uterinas y el pronóstico de la capacidad de llevar una gestación a término en varias especies, incluidos los camélidos (Marín Fuentes et al., 2017; Mir et al., 2013; Powers et al., 1990; Rodríguez et al., 2014; Snider et al., 2011; Tibary et al., 2001). La técnica es altamente confiable para la detección de cambios endometriales debido a procesos inflamatorios, degenerativos o neoplásicos. Las muestras endometriales también son útiles para la investigación microbiológica y se ha demostrado que son más precisas que los hisopos endometriales en el equino (Amorim et al., 2016). Aunque es seguro y altamente preciso en la mano de una persona entrenada, desafortunadamente muy pocas veces se usa en la práctica de los camélidos. Esto se debe principalmente a la falta de familiaridad con la técnica.

La biopsia endometrial debe considerarse en cualquier hembra que entre en una de las siguientes categorías:

- Evaluación previa a la compra de hembras reproductoras
- Infertilidad o reproducción no exitosa
- Pérdida / aborto recurrente de la gestación
- Detección de receptores para la transferencia de embriones
- Hembras con anomalías ultrasonográficas observadas en el útero.

El objetivo de este trabajo es revisar las técnicas utilizadas para la biopsia endometrial en llamas y alpacas y su interpretación.

Técnicas de biopsia endometrial

Las técnicas de biopsia endometrial utilizadas en los camélidos son similares a las descritas en otras especies. Aunque hay ventajas en tomar biopsias durante la fase lútea, especialmente cuando se desea evaluar las glándulas endometriales, la mayoría de las biopsias se toman durante la fase folicular en estas especies de ovulación inducida. El tratamiento previo con estrógeno (cipionato de estradiol o benzoato de estradiol) ha sido defendido con la justificación de que ayuda a abrir el cuello uterino. No recomendamos esta práctica porque causa un edema manifiesto del cuello uterino y del endometrio, y ocasiona más dificultades para atravesar el cuello uterino. Además, el edema dificulta la interpretación de la biopsia. La biopsia endometrial se debe tomar en la fase folicular máxima (tamaño del folículo de 8 a 12 mm en alpacas, 8-13 mm en llamas y 10 a 25 mm en camellos). En esta etapa, el útero está tonificado y el cuello uterino está abierto y se cateteriza fácilmente. La biopsia endometrial no debe tomarse dentro de los 5 días posteriores al apareamiento.

No hay pinzas de biopsia endometrial especialmente diseñadas para los camélidos. Hemos utilizado la pinza de biopsia de yegua para camellos y, más recientemente, la pinza de biopsia de ganado para llamas (Figura 1). Para alpacas los autores usan una pinza de biopsia curva más pequeña (pinza de biopsia rectal de Turrell®) (Figura 1).

La sedación del animal antes de la biopsia se recomienda en alpacas porque la técnica se realiza a ciegas. Para las llamas y los camellos, puede requerirse

sedación en animales agitados. Se debe tener cuidado de limpiar adecuadamente el área perineal con una solución antiséptica y de introducir el instrumento en la vagina de manera estéril.

En llamas y camellos, el instrumento de biopsia se inserta profundamente en la vagina y se dirige a través del orificio cervical externo hacia el útero mediante manipulación transrectal (es decir, técnica recto-vaginal) (Figure 2) (Powers et al., 1990; Tibary y Anouassi, 1997). En alpacas, la manipulación transrectal es a menudo imposible. El instrumento de biopsia se inserta a través del cuello uterino en la cavidad uterina a través de un vaginoscopio o sigmoidoscopio (Figura 3) (Rodríguez et al., 2014). Se aplica una ligera presión al instrumento, de modo que la mandíbula esté en buen contacto con el endometrio antes de cerrarlo. La muestra se toma preferiblemente de la base del cuerno izquierdo.



Figura 1. Biopsy instruments used for llamas (a. straight 12 mm x 4 mm) and alpacas (8 x 4 mm).

Las biopsias endometriales también se pueden obtener utilizando una técnica videoendoscópica (Figura 4) (Rodríguez et al., 2014). Una pequeña pinza de biopsia se guía a través del canal del endoscopio durante la histeroscopia. Las muestras son muy pequeñas (2 mm) y suponen un problema de interpretación (Figure 5). La ventaja de esta técnica es que el muestreo puede dirigirse directamente a una lesión visible. También se debe tomar una muestra de control de un endometrio de aspecto saludable. Las muestras deben colocarse en bolsas pequeñas de tejido para facilitar la manipulación. Las muestras pueden usarse para bacteriología antes de fijar una solución de formalina tamponada neutra al 10% o en solución de Bouin y procesarse como de costumbre (Snider et al., 2011).



Figura 2. Recto-vaginal technique for endometrial biopsy in llamas. A) sterile introduction of the instrument into the vagina, B) Guiding the biopsy instrument through the cervix and into the uterus using the recto-vaginal manipulation technique.



Figura 3. Endometrial biopsy technique in alpacas using the Turrell® biopsy punch trough a sigmoidoscope.

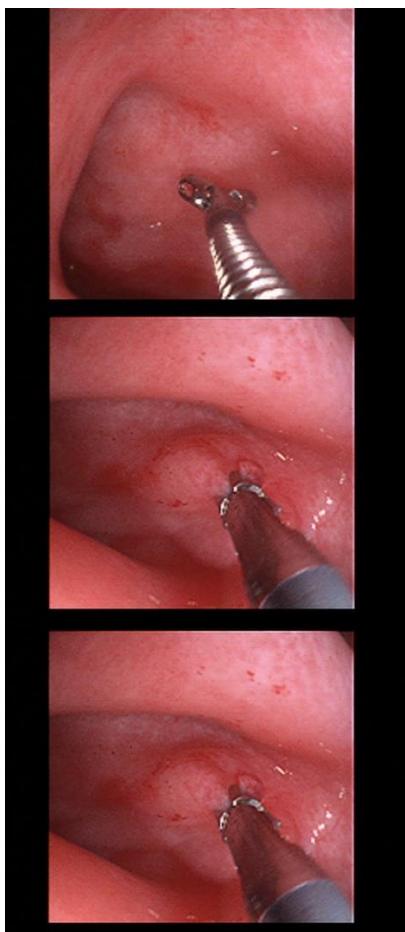


Figura 4. Hysteroscopic (videoendoscopic) technique for endometrial biopsy in alpacas.

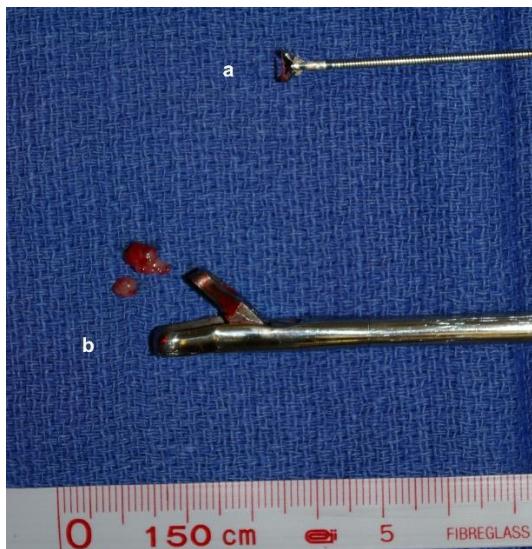


Figura 5. Comparison of endometrial biopsy samples taken by hysteroscopy (a) and by Turell® puch (b) Samples taken by various technique.

Interpretación

La interpretación de la biopsia endometrial debe ser realizada por una persona familiarizada con la histología e histopatología normales del endometrio camélido. El epitelio endometrial puede ser simple cuboidal, columnar, alto columnar, o una combinación dependiendo de la etapa del ciclo (Figura 6). Debajo del epitelio hay un área variable de tejido conjuntivo laxo o denso, la lámina propia superior, que contiene unas pocas glándulas uterinas o cuello de glándulas. La hemorragia subepitelial es muy común. El número de glándulas endometriales es variable, pero es más bajo que el observado en la yegua. El número de glándulas aumenta en la lámina propia más profunda que tiene un tejido conectivo menos denso. El epitelio glandular es columnar en la parte superficial y cuboidal en las capas más profundas. La invaginación intestinal de las células epiteliales en la luz de la glándula es un artefacto común. Se han descrito algunos cambios debidos a la actividad ovárica, especialmente la presencia de un cuerpo lúteo funcional. Sin embargo, estos cambios no son relevantes en el diagnóstico porque la mayoría de las biopsias uterinas se toman durante la fase folicular en los camélidos.

Las modificaciones patológicas del endometrio generalmente pertenecen a dos grupos: cambios distróficos e inflamatorios.

Las distrofias son alteraciones del desarrollo de la actividad y la histología del endometrio. Pueden ser congénitos o adquiridos y pueden tomar 3 formas: hipoplasia, atrofia o hiperplasia. La hipoplasia y la atrofia se deben a anestro o anomalías congénitas sin actividad ovárica. La hiperplasia de algunos tipos de células se observa en algunas neoplasias del útero. La neoplasia uterina es poco común, pero los autores han visto algunos casos de adenocarcinoma y hemangiomas (Figure 7).

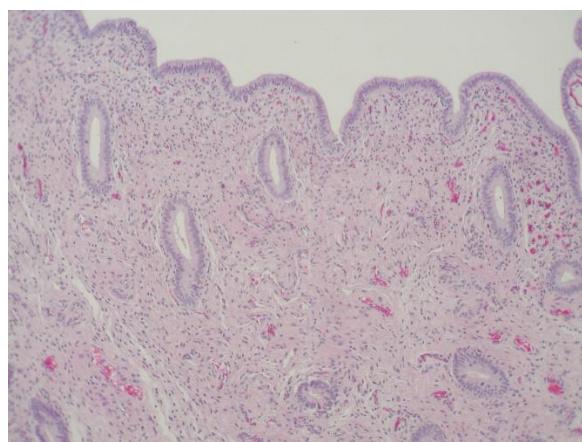


Figura 6. Normal endometrial histology

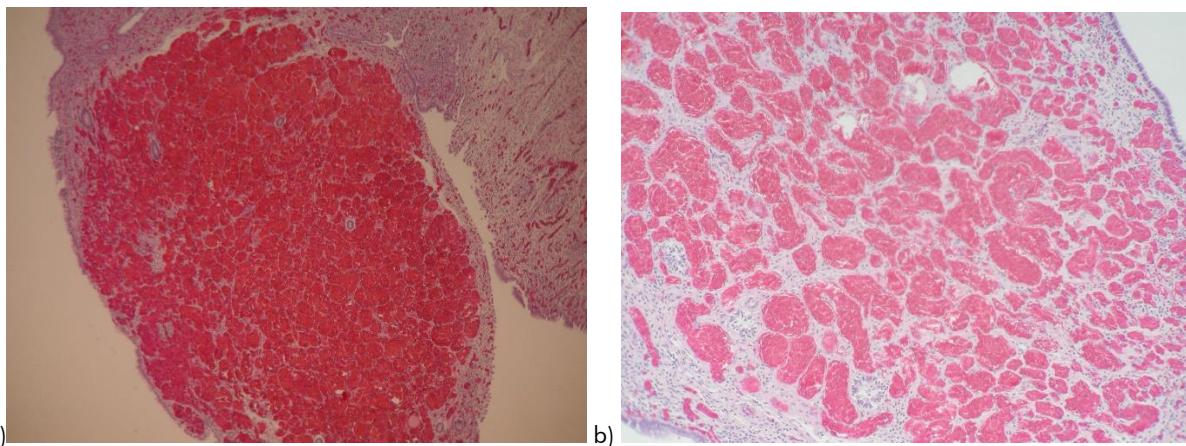


Figura 7. Alpaca endometrial biopsy: Uterine hemangioma.

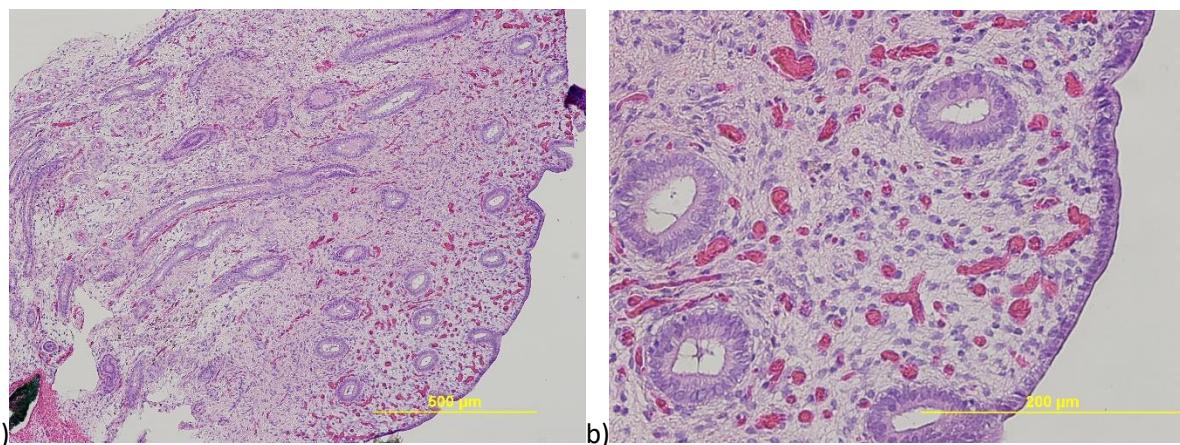


Figura 8. Endometrial biopsy in an infertile alpaca. A) x 100, Endometritis, neutrophilic, multifocal, mild with multifocal, mild fibrosis. B) x 400, vasculopathy, focal, severe, medium sized artery. Mild to moderate increase (3 to 5 layers) in the amount of fibrous tissue adjacent to occasional glands.

Los cambios inflamatorios son la forma más común de modificaciones histopatológicas del endometrio. Estos cambios se caracterizan por una infiltración del endometrio por células inflamatorias con diferentes grados de intensidad y presencia de cambios degenerativos como la fibrosis. La inflamación del endometrio se evalúa según los criterios de la tabla 1 y se divide en 3 categorías principales: endometritis aguda, endometritis infiltrante crónica y endometritis degenerativa crónica.

La endometritis aguda se caracteriza por una infiltración predominantemente con PMN en la zona subepitelial del estrato compacto (Figura 8). Muchas muestras presentan congestión. La endometritis puede volverse supurativa y causar una descamación del endometrio (Figura 8). El

exudado se compone principalmente de leucocitos polimorfonucleares con un pequeño número de linfocitos y células plasmáticas. La endometritis subaguda se caracteriza por hipertrofia y engrosamiento de los vasos sanguíneos, infiltración subepitelial de fibroblastos, histiocitos y linfocitos e infiltración leucocitaria leve alrededor de las glándulas endometriales (Figura 9). La endometritis crónica se caracteriza por una infiltración predominantemente linfocítica, a veces con presencia de plasmocitos, macrófagos, eosinófilos o mastocitos (Figura 10). Los siderófagos pueden estar presentes en el útero no involucionado o después del aborto o la pérdida embrionaria. La inflamación crónica puede ser localizada o generalizada y puede alcanzar el estrato esponjoso.

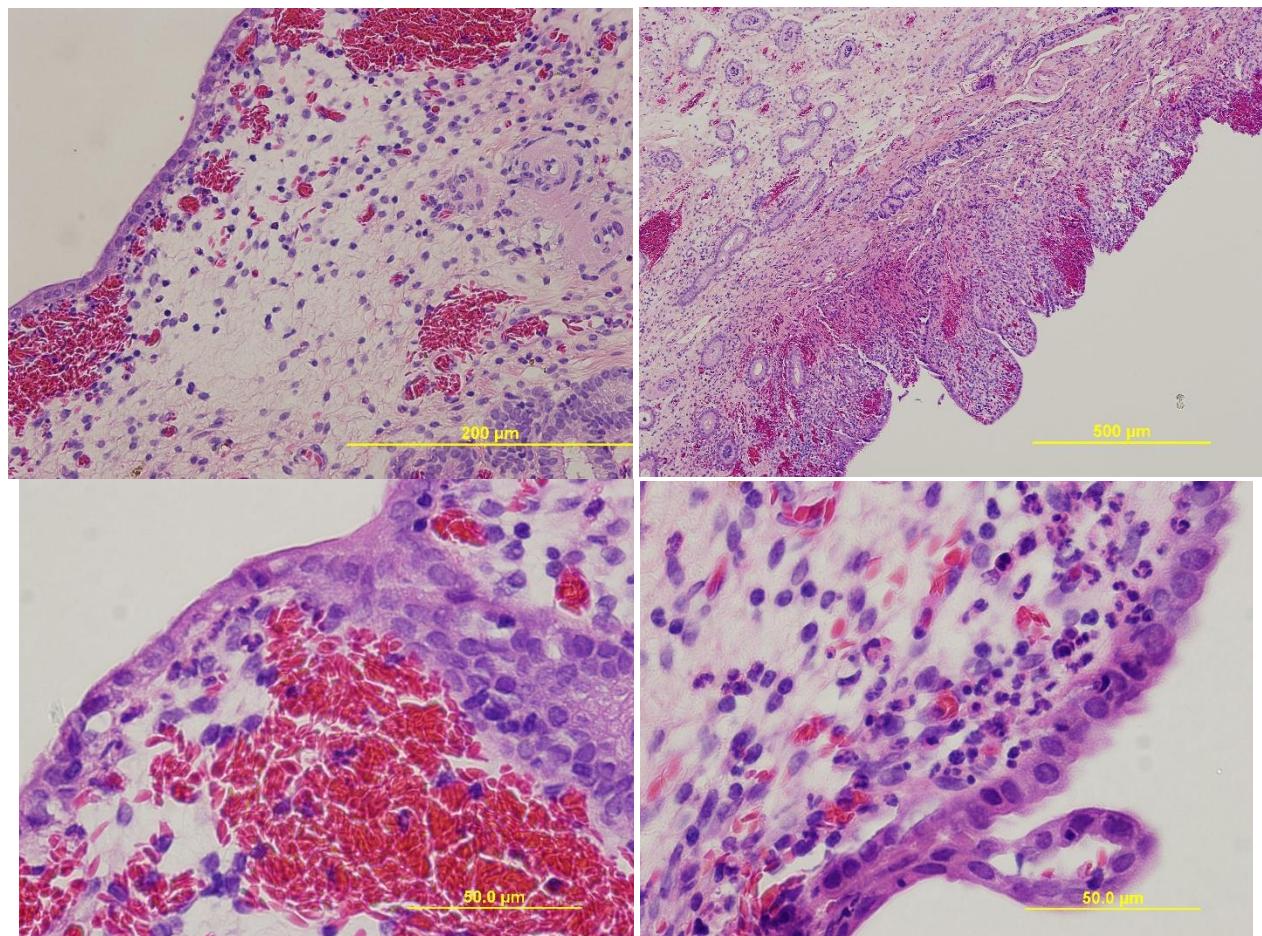


Figura 9. Endometrial biopsy in an infertile llama: Moderate to severe endometritis (a), lympho-suppurative sub-acute (b,c), diffuse with multifocal acute congestion and hemorrhage (d).

Una forma especial de endometritis crónica se encuentra en el dromedario. Se caracteriza por infiltrados linfocíticos difusos y por focos granulomatosos, que consisten en pequeños linfocitos, histiocitos y células reticulares. En el área central, hay células epiteloides, células gigantes de Langhans y algunos focos necróticos. La mayoría de estos infiltrados granulomatosos se localizan en la zona subepitelial (Figura 12). Estas lesiones son similares a las descritas en el ganado en caso de Campylobacteriosis o Tuberculosis. También podrían deberse a una infección por hongos. Algunas de estas características histológicas se han atribuido al tejido linfoide normal en el camello, pero nunca se han descrito en llamas y alpacas.

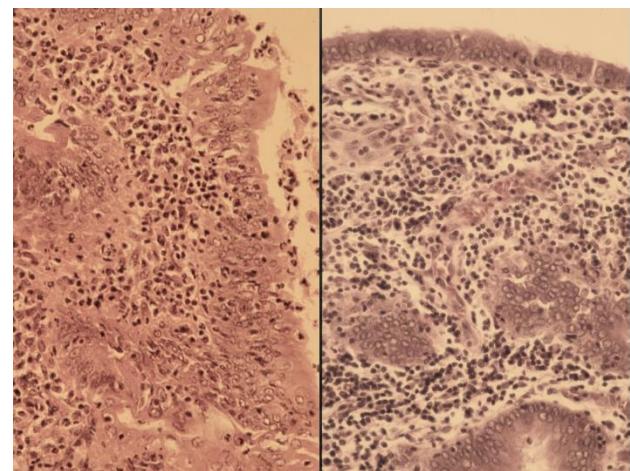


Figura 10. Llama endometrial biopsy: Chronic suppurative Endometritis

La endometritis degenerativa crónica se caracteriza por cambios irreversibles que incluyen la atrofia de las glándulas endometriales y la fibrosis. El diámetro y la actividad secretora de las glándulas endometriales están disminuidas. Las células del epitelio glandular presentan núcleos picnóticos. Estos cambios degenerativos se deben principalmente a la presencia de fibrosis periglandular o peri-vascular (Figura 13). En casos severos, se observa anidación con dilatación de las glándulas endometriales o quistes linfáticos. La severidad de la fibrosis se evalúa por el número de capas fibróticas presentes: leve (1 a 3 capas), medio (4 a 10 capas), severo (> 10 capas).



Figura 11. Llama endometrial biopsy: pyometra.

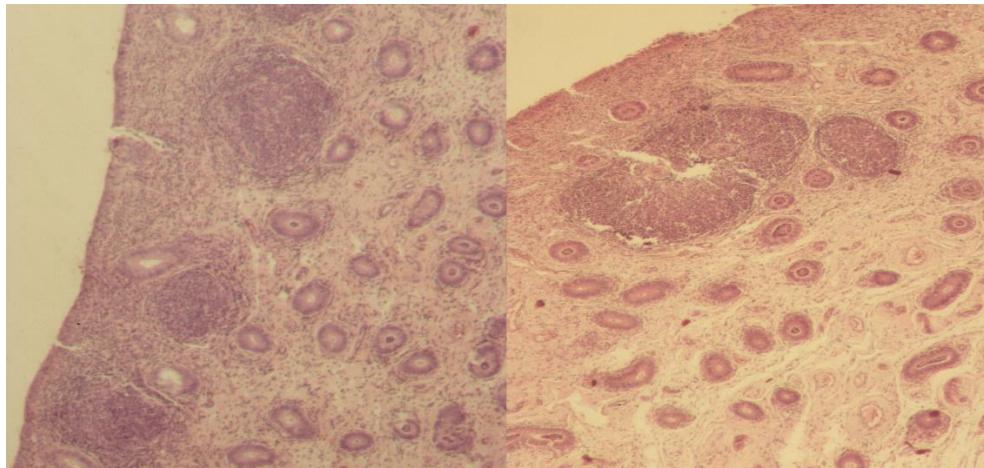


Figura 12. Camel endometrial biopsy: Granulomatous focal Endometritis.

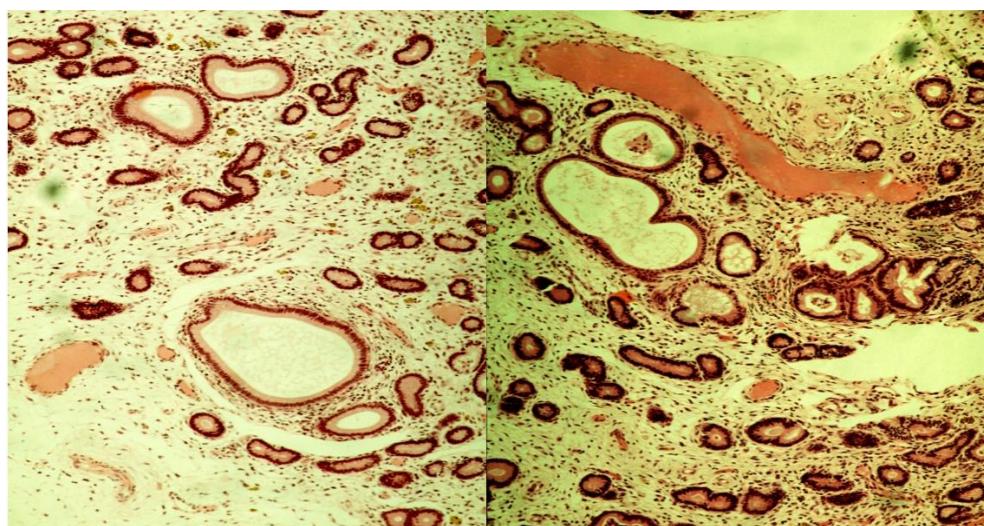


Figura 13. Alpaca biopsy chronic degenerative endometritis with peri-glandular and perivascular fibrosis.

Clasificación de biopsias endometriales

La clasificación de las biopsias endometriales se introdujo por primera vez para el equino con el fin de proporcionar un pronóstico de fertilidad basado en las posibilidades de que una yegua lleve una gestación a

término. Se ha propuesto una clasificación similar para biopsias endometriales de camélidos (Tabla 1). Sin embargo, no hay estudios retrospectivos que relacionen la clasificación de la biopsia endometrial con el mantenimiento de la gestación y el parto normal.

Tabla 1: Clasificación de la biopsia endometrial y el efecto potencial sobre la fertilidad (según Powers et al 1990).

Categoría de biopsia	Característica histopatológica	Efecto en fertilidad
Grado 1A	Endometrio normal	Tasa de preñez normal
Grado 1B	Pocos linfocitos dentro del endometrio. Siderófagos	Infección de grado bajo o restos de inflamación previa, irritaciones superficiales leves pueden indicar una reacción a el apareamiento o en curso. Pos-parto o post-aborto (siderófagos)
Grado 2A a 2B	Endometritis activa y aguda, crónica o crónica activa. La inflamación crónica tendía a localizarse más profundamente en el endometrio, en comparación con la inflamación activa y crónica activa.	Interferencia con la concepción y puede causar muerte embrionaria temprana.
Grado 3A	Endometritis crónica con fibrosis glandular	Interferencia con la implantación y la placentación, puede causar perdida embrionaria temprana
Grado 3B	Neoplasia uterina	Perdida o aborto

Referencias

- Amorim, MDd, Gartley, CJ, Foster, RA, Hill, A., Scholtz, EL, Hayes, A., Chenier, TS, 2016. Comparación de los signos clínicos, cultivo endometrial, citología endometrial, lavado uterino de bajo volumen y biopsia uterina y combinaciones en el diagnóstico de endometritis equina. *Journal of Equine Veterinary Science* 44, 54-61.
- Maríño Fuentes, B., Quintela Arias, LA, Becerra González, JJ, Barrio del Sol, Ld, Mociños Feijoo, JE, Guillín Punyal, JL, Barrio López, M., Prieto Lago, A., Díaz Cao, JM, Fernández Rodríguez, G., García Herradón, PJ, Peña Martínez, AI, 2017. Acuerdo entre citología endometrial post mortem, biopsia y bacteriología en vacas lecheras seleccionadas. *Reproducción Animal* (Belo Horizonte) 14, 1024-1033.
- Mir, F., Fontaine, E., Albaric, O., Greer, M., Vannier, F., Schlafer, DH, Fontbonne, A., 2013. Hallazgos en biopsias uterinas obtenidas por laparotomía de perras con infertilidad inexplicada o embarazo perdida: un estudio observacional. *Theriogenology* 79, 312-322.
- Powers, B.E., Johnson, L.W., Linton, L.B., Garry, F., Smith, J., 1990. Técnica de biopsia endometrial y hallazgos patológicos uterinos en llamas. *Revista de la Asociación Americana de Medicina Veterinaria* 197, 1157-1162.
- Rodríguez, J. S., Pearson, L.K., Tibary, A., 2014. Capítulo 17 - Examen clínico de la función reproductiva femenina, en: Cebra, C., Anderson, D.E., Tibary, A., Saun, R.J.V., Johnson, L.W. (Eds.), *Llama y Alpaca Care*, W.B. Saunders, St. Louis, pp. 168-187.
- Snider, T.A., Sepoy, C., Holyoak, G.R., 2011. Biopsia endometrial equina revisada: observación, interpretación y aplicación de datos histopatológicos. *Theriogenology* 75, 1567-1581.
- Tibary, A., Anouassi, A., 1997. Examen de sanidad reproductiva de las hembras Camélidas, en: Tibary, A. (Ed.), *Theriogenology in Camelidae: Anatomía, Fisiología, BSE, Patología y reproducción artificial*, Ediciones Actes, Institut Agronomique et Veterinaire Hassan II, pp. 243-310.
- Tibary, A., Anouassi, A., Memon, M.A., 2001. Enfoque para el diagnóstico de la infertilidad en los camélidos: estudio retrospectivo en alpacas, llamas y camellos. *J Camel Pract Res* 8, 167-179.