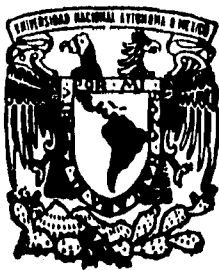


148
24



POBLACION DE MASTOCITOS EN GLANDULA
MAMARIA DE PERRA (Canis familiaris) EN
PERIODO ACTIVO E INACTIVO.

T E S I S

PRESENTADA ANTE LA

DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DE LA

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
PARA LA OBTENCION DEL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P O R

HECTOR VILLASEÑOR GAONA

ASESORES: M. EN C. ROSA EMILIA LAVIELLE

M. EN C. MARIO PEREZ MARTINEZ



MEXICO, D. F.

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo :

Al creador y a mi madre, por darme la vida.

A mi padre Baldo, que ha demostrado una fortaleza única en él, por todo su apoyo y sus consejos que me ha dado durante toda mi vida.

A mi hermano, Luis Alfredo, por el gran ejemplo que me ha dado.

A mis hermanos: Margarita, Cristina, Ana, Rogelio.

A Ivonnet, que gracias a todo su amor hemos logrado juntos muchas de nuestras metas.

A Rosa Emilia Lavielle, por su apoyo y confianza brindada.

A mis dos amigas y compañeras con cariño y respeto,

Ma. Esther Martínez R. y A. Margarita Aguilar T.

A Alberto Fouilloux M., por su amistad.

A mi Facultad y a mis Maestros.

Y por último a todos los animales que dieron su vida para mi aprendizaje.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco sinceramente :

A mis asesores M. en C. Rosa Emilia Lavielle y M.en C. Mario Pérez Martínez por el apoyo brindado para la realización de esta tesis

A los miembros del jurado:

M.V.Z.Martha Beatriz Trejo Salas.

M.V.Z.Réne Fernández Román.

M.V.Z.Santiago René Anzaldúa Arce.

M.V.Z.Rosa Emilia Lavielle.

M.V.Z.Jorge Hernández Espinoza.

Y muy en especial al jefe del departamento de Morfología,

M.V.Z.Martha Beatriz Trejo Salas por todo el apoyo brindado para mi superación profesional.

Al técnico Emilio Francisco López López por su colaboración en el desarrollo de este trabajo y su sincera amistad.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN	1
INTRODUCCION	
I ASPECTOS MORFOFUNCIONALES DE LA GLÁNDULA MAMARIA	3
II ASPECTOS MORFOFUNCIONALES DE LOS MASTOCITOS	5
OBJETIVO	8
HIPOTESIS	9
MATERIAL Y METODOS	10
RESULTADOS	12
DISCUSION	13
LITERATURA CITADA	15
CUADROS Y FIGURAS	19

RESUMEN

VILLASEÑOR GAONA HECTOR. Población de mastocitos en glándula mamaria de perra (*Canis familiaris*) en periodo activo e inactivo .(Bajo la asesoria de: M en C Rosa Emilia Lavielle y M en C Mario Pérez-Martínez).

Descriptores : Glandula mamaria, mastocitos, perra.

Las características morfológicas del estroma y parénquima de la glándula mamaria (GM) dependen del estado funcional en que se encuentre. Los mastocitos (MC) son elementos del tejido conjuntivo que interactúan con diversos tipos celulares a través de la liberación de los mediadores químicos contenidos en sus gránulos. Con el propósito de conocer el número y patrón de distribución de los MC en la GM de perra en periodo activo e inactivo y determinar si existen diferencias en la población de MC cuantificados para ambas condiciones fisiológicas se efectuó el presente estudio. Para ello se utilizaron 40 perras adultas, clínicamente sanas. Se obtuvieron fragmentos de la base de la mama de los pares abdominal craneal y caudal, se procesaron siguiendo el método de inclusion en parafina y se tifieron con hematoxilina-eosina y azul de toluidina. Para el conteo celular se consideraron los MC existentes en el estroma interalveolar y el estroma interlobulillar. Hubo diferencia estadística significativa entre la región estromal interalveolar (R1) y la región interlobulillar (R2) de la GM en período inactivo; así como entre la R1 de la GM en período inactivo con respecto a la R1 y R2 de la GM en período activo ($P < 0.05$). Los resultados obtenidos sugieren que los MC tienen un papel relevante en la dinámica que presenta el tejido

conjuntivo laxo areolar durante el periodo inactivo de la GM, periodo durante el cual el tejido conjuntivo interalveolar prolifera notoriamente hasta llegar a cubrir el espacio que ocupaba el tejido glandular.

INTRODUCCION

I. ASPECTOS MORFOFUNCIONALES DE LA GLANDULA MAMARIA

La glándula mamaria (GM) desde el punto de vista histológico es de tipo tubuloalveolar compuesta, cuya unidad secretora se compone de un alveolo y un ducto. Los grupos de unidades secretoras forman lóbulos separados por tabiques de tejido conjuntivo; un ducto intralobulillar se abre en un ducto interlobulillar de los tabiques de tejido conjuntivo y varios de ellos se unen para formar un ducto galactóforo que drena un lóbulo de la glándula. En la perra los ductos galactóforos se abren separadamente, siendo de 7 a 16. El alveolo esta revestido por un epitelio cúbico simple cuya altura varía dependiendo del período funcional en que se encuentre la GM. Al final del ciclo secretor las células epiteliales se tornan cúbicas bajas. Todos los lobulillos del interior de la glándula no se encuentran en la misma fase secretora de manera sincronizada, por lo que en un mismo corte histológico se pueden observar lobulillos en varias fases de actividad. En la perra cada ducto galactóforo se ensancha en la base del pezón y forma varios senos galactóforos (6,10,11,30).

El tejido intersticial de la GM proporciona sosten para las unidades secretoras y contiene vasos sanguíneos, linfáticos y nervios. Por otro lado, en cada unidad secretora existe una capa de tejido conjuntivo laxo con fibras colágenas y elásticas en donde también se encuentran plasmocitos y linfocitos (27). El

tejido conjuntivo que rodea a cada lobulillo constituye un tabique denso que contiene a los ductos interlobulillares así como vasos sanguíneos y linfáticos mayores (10,17).

No obstante que la GM forma parte del sistema tegumentario, desde el punto de vista funcional se le asocia con el aparato reproductor, ya que la lactancia representa en cierta forma la culminación del ciclo reproductivo en los mamíferos (5).

La perra normalmente tiene cinco pares de glándulas mamarias, dichos pares de craneal a caudal se denominan de la siguiente manera: Torácico: craneal y caudal; abdominal: craneal y caudal e inguinales (12).

La actividad funcional de la GM está regulada por diversos mecanismos neuro-immuno-endócrinos los cuales participan de manera integrativa (2,5,16,19). Aunque dicha modulación se realiza en forma continua, el desarrollo morfofuncional de la glándula se ha dividido para su estudio en tres períodos:

- a) Mamogénesis, período durante el cual ocurre el desarrollo y diferenciación morfológica de la GM; en su regulación endócrina participan: estrógenos, progesterona, lactógeno placentario, glucocorticoides y hormonas tiroideas
- b) Lactogénesis, período de diferenciación funcional; en su regulación endócrina participan: estrógenos, prolactina, hormona del crecimiento, glucocorticoides y hormonas tiroideas.
- c) Lactación: es el período de síntesis y eyeción de la leche, es regulado por las hormonas: prolactina, hormona del crecimiento, glucocorticoides, hormonas tiroideas, oxitocina y catecolaminas (2).

II. ASPECTOS MORFOFUNCIONALES DE LOS MASTOCITOS

Los mastocitos (MC) son células del tejido conjuntivo que se caracterizan por presentar en su citoplasma gránulos basófilos que resultan metacromáticos cuando se tiñen con anilinas básicas. Cada gránulo está cubierto por membrana y su diámetro promedio es de 0.5 μm . La apariencia de los gránulos varía dependiendo de su estado funcional; mientras algunos tienen aspecto sólido y denso, otros presentan apariencia poco electrodensa y tienen una estructura granular fina (22). Estas células responden a estímulos físicos, químicos e inmunológicos, secretando un complejo de sustancias biológicamente activas que participan en una amplia gama de procesos fisiológicos y patológicos (1,3,4,8,21,25,26,29).

Los principales mediadores químicos de los MC conocidos hasta el momento son: mediadores preformados; Histamina (HA), serotonina, factores quimiotácticos para neutrófilos y eosinófilos, activadores de cininas, complemento y sistemas de coagulación; mediadores asociados a los gránulos: heparina y condroitin sulfatos; enzimas proteolíticas: triptasa, proteasas, factor inflamatorio de anafilaxia y mediadores generadores de activación: prostaglandinas, ácido hidroxílico eicosáedrico, ácido hidroperoxieicosatetraenoico, leucotrienos y factor activador de plaquetas (18,20,29).

Diversos hallazgos sugieren que la liberación de los componentes de los gránulos de los MC pueden estar involucrados en la formación de fibras de colágena *in vivo*. Los fibroblastos son una fuente importante de procolágeno y son necesarios para la

maduración de los gránulos de los MC. Actualmente se sabe que existen diversas vías de síntesis de colágena así como de su deposición *in vivo* (17). Las fibras de colágena son depositadas en la matriz extracelular después de que los fibroblastos secretan procolágeno.

Durante la interacción de los MC con otras células, la histamina (HA) se libera de manera pulsátil hacia el medio extracelular, lo que puede servir para mediar la comunicación intercelular, ya que múltiples tipos celulares poseen receptores para la HA, que modulan la amplia gama de respuestas. Un ejemplo de ello se observa en los fibroblastos que al captar los mediadores químicos liberados por los mastocitos, activan su capacidad secretora de colagenasa y proteinasa neutra (17,23).

En estudios realizados *in vivo* e *in vitro*, se ha observado que los MC tiene capacidad para interactuar con diversos tipos celulares, incluyendo fibroblastos, células endoteliales y epiteliales, linfocitos, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, células nerviosas y cancerosas. Dicha interacción se da por medio de la liberación de sus mediadores químicos a través de procesos degranulativos y no degranulativos (7,9,13,14,24).

Por otro lado los MC son células efectoras críticas en ciertas formas de hipersensibilidad inmediata dependientes de IgE; asimismo participan en una amplia variedad de respuestas biológicas en las que no participa la IgE.

Existen evidencias que indican que los MC pueden producir citocinas multifuncionales, tales moléculas pueden ser mediadores

importantes en respuestas biológicas asociadas con la activación de estas células (figura 1).

La primera evidencia directa de que las poblaciones de MC pueden producir una citocina bien caracterizada fue la demostración de que ciertas líneas de MC de ratón tumorigénicas transformadas por el virus de la leucemia murina, produjeron RNAm para el factor estimulador de colonias de macrófagos-granulocitos (GM-CSF).

Brown y colaboradores posteriormente reportaron que, 9 de 15 líneas de MC de ratón de manera espontánea o inducida expresan constitutivamente RNAm para la interleucina 4 (IL-4) y algunos liberaron IL-4 bioactiva. Solo algunas líneas de estos mastocitos contenían RNAm para IL-3 o GM-CSF.

Por lo anterior, actualmente resulta necesario conocer el comportamiento poblacional de los MC bajo diferentes estados fisiológicos, ello contribuirá a comprender la manera en que dichas células interactúan con otros elementos celulares que de igual manera están involucrados en el mantenimiento de la homeostasis local de la GM (15,17,18,23,31).

OBJETIVOS

1. Conocer el número y patrón de distribución de mastocitos en la glándula mamaria de perra en estado activo.
2. Conocer el número y patrón de distribución de mastocitos en glándula mamaria de perra en estado inactivo.
3. Comparar la densidad de población de mastocitos por mm^2 resultante del conteo en glándula mamaria en estado activo e inactivo.

HIPOTESIS

Dado que en la regulación del proceso de lactogénesis y de lactación participa el sistema neuro-immuno-endócrino del individuo y tomando en cuenta que los MC contienen en sus gránulos una amplia gama de mediadores químicos, los cuales son relevantes en el proceso de comunicación intercelular a nivel tisular, la población de éstas células registra modificaciones en su número de acuerdo al período fisiológico en que se encuentra la glándula mamaria.

MATERIAL Y METODOS

OBTENCION DE LAS MUESTRAS

Las muestras de GM se obtuvieron a partir de 40 perras adultas (1-4 años), 20 en período activo y 20 en período inactivo. Dichos animales se encontraban clínicamente sanos y fueron sacrificados en el Centro Antirrábico "Luis Pasteur", dependiente de la Secretaría de Salud.

Se tomaron fragmentos de 2 cm² de la porción de la base de la mama de los pares: abdominal craneal y/o caudal y se fijaron en formol salino durante cinco días.

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Las muestras se procesaron siguiendo el método de inclusión en parafina, posteriormente se efectuaron cortes de 6 µm de grosor y se tificaron con hematoxilina-eosina para observar la organización histológica general de la GM y con azul de toluidina para efectuar el conteo de los mastocitos

ESTUDIO HISTOLOGICO

Para el análisis cuantitativo de los cortes histológicos de GM en período activo e inactivo, se consideró el estroma interalveolar (R1) y el estroma interlobulillar (R2), registrando los MC existentes en 16 campos tomados al azar para conocer su población por mm², para lo cual se utilizó un ocular con retícula micrométrica y el objetivo 40X.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos del conteo celular se sometieron a un análisis de ANOVA con el propósito de determinar la existencia de diferencias entre los dos períodos estudiados. Posteriormente se efectuó un análisis de comparaciones múltiples de Newman-Keuls.

RESULTADOS

En el presente trabajo los resultados del conteo de mastocitos por mm² son los siguientes:

En glándula mamaria activa, R1, el promedio fué de 56.65 con una desviación estandar de 19.69; en R2, el promedio fué de 69.55, con una desviación estandar de 19.68.

En cuanto a la glándula mamaria inactiva en la R1 el promedio fué de 426.45 con una desviación estandar de 101.28; en R2, el promedio fué de 116.4, con una desviación estandar de 41.64.

Encontrándose una diferencia estadística significativa entre la glándula mamaria en periodo inactivo con relación a la glándula mamaria en periodo activo así como en R1 con respecto a R2 de la glándula mamaria en periodo inactivo ($P < 0.05$).

DISCUSION

Los resultados obtenidos en el presente estudio indican que la población de MC por mm^2 del estroma interalveolar así como del estroma interlobulillar de la GM es notoriamente mayor durante el período inactivo con respecto al período activo, ello podría explicarse debido a que en el proceso de transición morfofuncional de la GM que ocurre del período de lactación al de reposo es paulatino, durante dicho lapso ocurre un colapso gradual de los alveolos que dejan de secretar hasta que se vacían, al mismo tiempo ocurren cambios a nivel del estroma, debido a que el tejido conjuntivo perialveolar y el tejido adiposo proliferan notoriamente hasta llegar a cubrir el espacio que ocupaba el tejido glandular.

Los resultados anteriores están de acuerdo con Dabbous y colaboradores, quienes demostraron que los productos de los MC estimulan la producción de la colagenasa tipo I en cultivos de fibroblastos (17).

Lavielle y colaboradores efectuaron un estudio en GM de perra con el propósito de analizar cuantitativamente la distribución de los MC en glándulas afectadas por neoplasias (benignas o malignas) y en GM normales. En dicho estudio hubo diferencia significativa entre las GM neoplásicas y normales, siendo mayor el número de MC en los tejidos normales, lo que sugiere la importancia que tienen estas células en la homeostasis local (23).

Los resultados obtenidos sugieren que los MC tienen un papel relevante en la dinámica que presenta el tejido conjuntivo laxo

areolar durante el período inactivo de la GM, período durante el cual el tejido conjuntivo interalveolar prolifera notoriamente hasta llegar a cubrir el espacio que ocupaba el tejido glandular.

LITERATURA CITADA.

1. Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pober, J.S.: *Inmunología Celular y Molecular*. Interamericana-Mc Graw-Hill, 2da. Ed. México, D.F., 1995.
2. Aceves, V.C., Valverde, R.C.: Lactación, homeorresis y hormonas tiroideas. Vet. Méx., 18: 215-228 (1987).
3. Anzaldúa, A.R.: La biología de la célula cebada (Estudio recapitulativo). Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1985.
4. Ashraf, M., Urban, J. F., Lee, T.D. and Lee, C.M.: Characterization of isolated porcine intestinal mucosal mast cells following infection with *Ascaris suum*. Vet. Parasitol., 29: 143-158 (1988).
5. Austin, C.R., Short.: Hormonas en la reproducción. Prensa Médica. México, 1980.
6. Banks, J.W.: *Histología Veterinaria Aplicada. Manual Moderno*, México, 1986.
7. Becker, A.B., Fan Chung, K., Mc. Donald, D., Lazarus, S., Frick, O.L. and Gola, W.M.: Mast cell metereogcity in dog. Skin. Anat. Rec., 213:477-480 (1985).
8. Brandon, J. M.: and Evans, J.E.: Observations on uterine mast cells during early pregnancy in the Vole, *Microtus agrestis*. Anat. Rec., 208: 515-520 (1984).
9. Crow, J., Wilkins, M, Howes, M. and Helliwel, P.: Mast cells in the female genital tract. Int. J. Gynecol. Pathol. 10: 230-237 (1991).

10. Dellman, H.D. y Brown, M.E.: *Histología Veterinaria*. Acribia, Zaragoza, España, 1980.
11. Duker.: *Fisiología de los Animales Domésticos*. Aguilar, Madrid., 1977.
12. Frandson D.R.: *Anatomía y Fisiología de los Animales Domésticos*. Interamericana-Mc Graw Hill. México,D.F., 1988.
13. Galli, S.J., Gordon, J.R. and Wershil, B.K.: Cytokine production by mast cells and basophils. Current Opinion in Immunology., 3 : 865-873 (1991).
14. García, D.D.: Distribución y variación del número de mastocitos en la glándula mamaria en regresión en la rata. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de México. México, D.F., 1983.
15. Greenberg, G. and Burnstock.: "A novel cell to cell interaction between mast cells and other cell types". Exp. Cell. Res., 147: 1-13 (1983).
16. Guyton.: *Tratado de Fisiología Médica*. Interamericana- Mc Graw Hill, México,D.F., 1988.
17. Hartveit, F.: Mast cell asociation with collagen fibres in human breast stroma. Europ. J. Morphol., 31: 209-218 (1993).
18. Heyworth, M.F. and Jones, A.L.: *Immunology of the gastrointestinal tract and liver*. Ravin Press. New York, U.S.A., 1988.
19. Homo-Delarche, F. and Dardenne, M.: The neuroendocrine immune axis. Springer Semin. Immunopathol., 14: 221-238 (1993).
20. Huntley J.F.: Mast Cells and Basophils: a review of their heterogeneity and fuction. J. Comp. Path., 107: 349-372 (1992).

21. Jones, R.E. Duvall, D. and Guillette, L.J.: Rat ovarian mast cells: Distribution and cyclic changes. Anat. Rec., 197: 489-493 (1980).
22. Kitamura, Y.: Heterogeneity of mast cells and phenotypic change between subpopulations. Ann. Rev. Immunol., 7:59-76 (1989).
23. Lavielle, R.E., De Buen, N., Candanosa E., Pérez M.M., Martínez M.J.J.: Conteo de mastocitos en glándula mamaria canina con diferentes tipos de neoplasias. Acta Médica., 30: 117-118 (1994).
24. Lee, C.S., Mensen, E. And Brandon, M.R.: Sub populations of lymphocytes in the mamary gland of sheep. Immunology., 66: 388-393 (1989).
25. McKay, D.M. and Bienenstock.: The interaction between mast cells and nerves in the gastrointestinal tract. Immunology Today., 15: 533-538. (1994).
26. Newlands, G.F., Huntley, J.F. and Miller, H.R.: Concomitant detection of mucosal mast cells and eosinophils in the intestines of normal and *Nippostrongylus*-immune rats. A re-evaluation of histochemical and immunocytochemical techniques. Histochemistry., 81: 585-589 (1984).
27. Park, Y.H., Fox, L.K., Hamilton, M.J. and Davis, W.C.: Bovine mononuclear leucocyte subpopulations in peripheral blood and mammary gland secretions during lactation. J. Dairy Sci., 75: 998-1006 (1992).
28. Wedmore C.V., Williams, T.J.: Control of vascular permeability by polymorphonuclear leukocytes in inflammation. Nature. 289: 646-650 (1981).

29. Woodbury, R.G.F., Miller, H.R., Huntley, J.F., Newlands, G.F., Fallisert, A.C. and Wakelin, D.: Mucosal mast cells are functionally active during spontaneous expulsion of intestinal nematode infections in rat. Nature., 312: 450-452 (1984).

30. World Association of Veterinary Anatomists: Nómina Anatómica Veterinaria, 4a Ed. International comitte on veterinary gross anatomical nomenclature. Zurich and Ithaca, N.Y., 1992.

31. Zapata, G.A., Cooper, E.L.: The Immune System Comparative Histophysiology. John Wiley and Sonf., U.K., 1990.

Esquema que ilustra la interacción existente entre los MC. con otras células residentes del tejido conjuntivo así como con diversas células de reclutamiento por medio de las citocinas que producen.

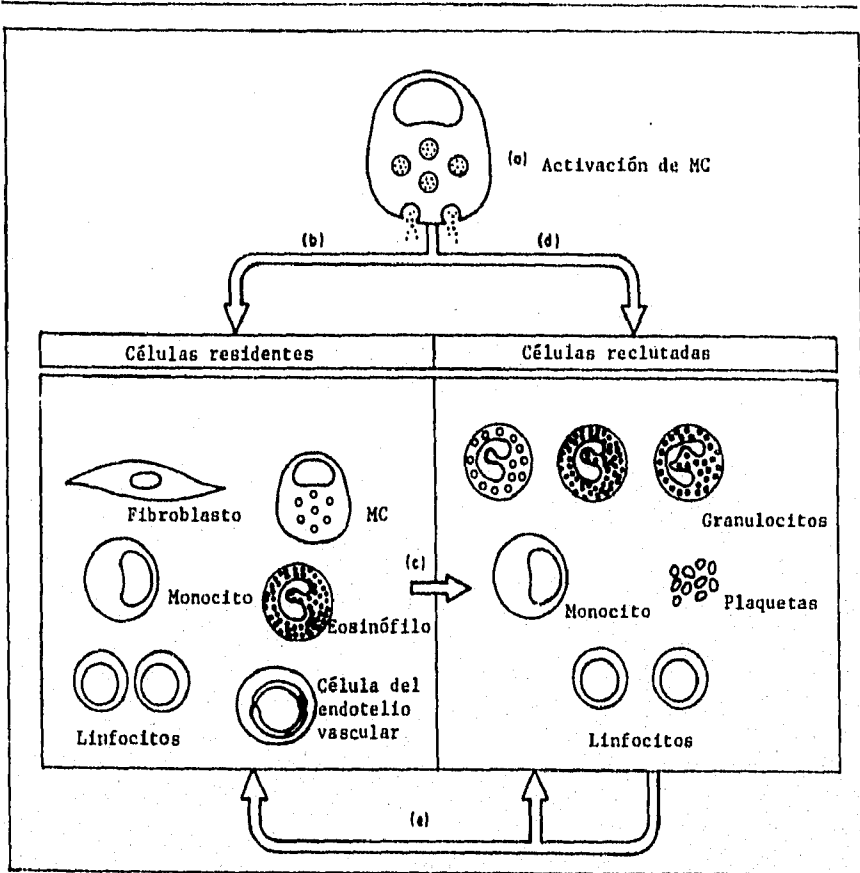


FIGURA 1

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA



Figura 2 : Glándula mamaria de perra en período activo .
Alveolos en producción (flecha delgada), estroma intra-lobulillar
(flecha ancha), H.E. 32x.



Figura 3. Glándula mamaria de perra en período activo, mastocitos en el estroma interalveolar (flecha delgada), Azul de toluidina, 32x.

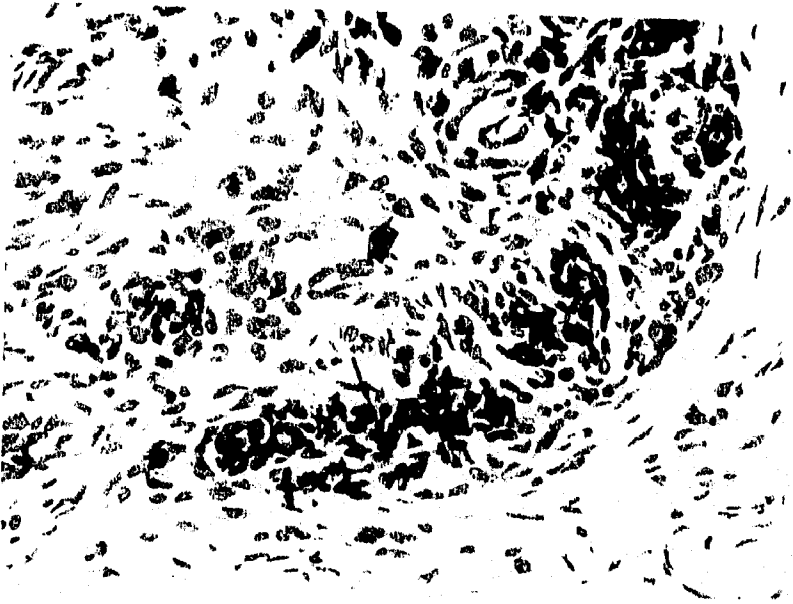


Figura 4. Glándula mamaria de perra en período inactivo, alveolos contraídos (flecha delgada), proliferación del tejido conjuntivo (flecha ancha), H.E. 32x .



Figura 5. Glándula mamaria de perra en período inactivo, aumento en la población mastocitos en el estroma interalveolar (flecha delgada), Azul de tolouidina, 32x.

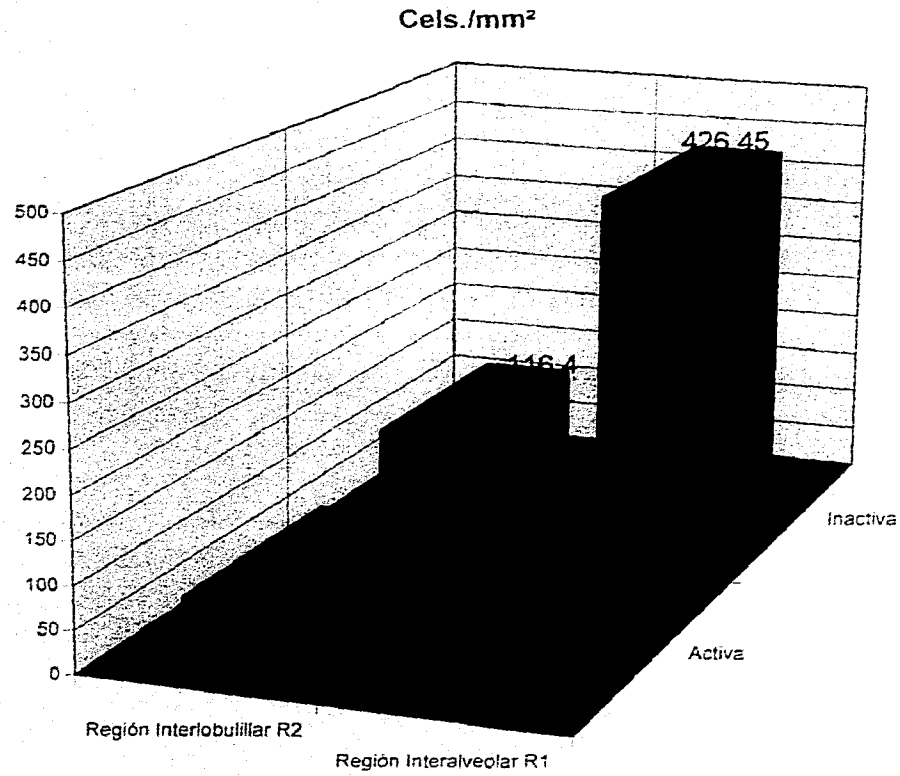


Figura 6 Promedio de mastocitos por mm² en la región interalveolar e interlobulillar en glándula mamaria de perra en período activo e inactivo