

175 *2-jun*



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“CONTRIBUCION AL ESTUDIO HISTOQUIMICO DE LOS SACOS ANALES DEL PERRO (*Canis familiaris*)”.

T E S I S

Que para obtener el titulo de:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P r e s e n t a :

CARLOS RENOVALES VILLA

Asesor: M. V. Z. ROSA EMILIA LAVIELLE

México, D. F.

1981

TESIS DONADA POR
D. G. B. UNAM





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.

"CONTRIBUCION AL ESTUDIO HISTOQUIMICO DE LOS SACOS ANALES
DEL PERRO (*Canis familiaris*)".

I N D I C E

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
MATERIAL Y METODOS	5
RESULTADOS	7
DISCUSION	18
CONCLUSIONES	28
BIBLIOGRAFIA	29

RESUMEN

Se realizó el estudio de los sacos anales del perro con el fin de determinar las diferentes reacciones histoquímicas de los gránulos intracitoplasmáticos de las células presentes en cuatro áreas diferentes, relacionando los resultados con un trabajo realizado previamente. (8)

Se encontraron tres tipos de granulaciones de diferentes reacciones histoquímicas, identificando al tipo I como Melanina, el tipo II como Heparina y el III como Cromolipoides, llegándose a la conclusión que las células cebadas están involucradas en la formación de diferentes tipos de sustancias.

INTRODUCCION

En los carnívoros se encuentra una estructura especial, los sacos anales, que en el perro contienen glándulas apocrinas en su mayor proporción (1, 8, 16, 33 y 34).

Se ha discutido ampliamente, la existencia de diversos padecimientos de los sacos anales, tales como obstrucciones, procesos inflamatorios y neoplasias; así como su diagnóstico, su tratamiento, su frecuencia y su distribución en el perro (4, 7, 17, 18, 21 y 39).

La función de los sacos anales en el perro sigue siendo una incógnita, ya que la hipótesis de que la secreción de sus glándulas servía como lubricante en la excreción fecal ha sido descartada por la situación anatómica de los sacos y sus conductos, la segunda hipótesis sustentaba la elaboración de sustancias con actividad sobre la atracción sexual, -- estados de alarma y defensa, pero también ha sido desechada porque se ha comprobado que en este sentido los olores específicos de la orina y secreciones vaginales, juegan el papel más importante e incluso existe una correlación entre éstos y cierta preferencia social (11).

Canales (8), realizó el estudio anatómico e histológico de -- los sacos anales del perro. Microscópicamente demostró que están formados por las tres capas histológicas comunes a los órganos huecos (mucosa, -- submucosa y muscular); que en la mucosa, por debajo del epitelio de revestimiento (epitelio estratificado plano queratinizado), se localizan unas células semejantes a las cebadas, con granulaciones metacromáticas. En el estroma conjuntivo, entre las glándulas apocrinas se localizan células cebadas, cuyos gránulos metacromáticos presentaron mayor intensidad a los colorantes usados, en comparación con las células presentes debajo del epitelio de revestimiento.

La presencia de estas diferentes reacciones metacromáticas, nos conduce a realizar una revisión más detallada acerca de las células cebadas y los sacos anales del perro.

Los mastocitos o células cebadas, son células del tejido conjuntivo, observadas por primera vez por Von Rocklinshawsen (en 1863), que poseen en su citoplasma gránulos de aproximadamente media micra de diámetro (Ehrlich; 1877 y 1879), estos gránulos se tiñen de púrpura con los colorantes básicos y a menudo cambian el matiz del colorante. Ehrlich --- llamó a este fenómeno "metacromasia" y también notó estos gránulos libres en el tejido conjuntivo (5 y 14).

Los gránulos libres fueron observados en el tejido conjuntivo - de varios vertebrados e invertebrados por Michels (36). Este autor dió el nombre de " mastzelle " (mastocitos) a las células que contenían estos gránulos, en la creencia que servían de nutrición a otras células. Posteriormente en la literatura el nombre fué traducido como " células cebadas o mastocitos " (14).

Además, se ha observado que los gránulos pueden ser liberados - solos o en grupos, reunidos en vacuolas (5 y 14).

Las propiedades bioquímicas de las células cebadas y su forma - degranulación, hacen considerarlas como glándulas unicelulares del tejido conjuntivo, de secreción de tipo holocrino y en muchas ocasiones merocrino (14).

Por otra parte, la microscopía electrónica, confirma las observaciones al microscopio de luz (u óptico) de campo claro, en cuanto a la íntima relación entre las células cebadas y el endotelio capilar, descrito por Riley (42); la supervivencia del núcleo y la rápida regeneración de los gránulos, (después de la degranulación) en cada célula (10).

En estudios químicos se ha determinado la presencia en los gránulos de los mastocitos de : heparina, histamina, dopamina y serotonina; todas -- ellas sustancias que se relacionan a diferentes funciones dentro del or ganismo, así como la de promotores de la secreción de algunas glándulas (6, 9, 14, 19, 25 y 27).

La degranulación subsecuente a una reacción anafiláctica, fué observada por primera vez en el perro por Jaques y Waters (25).

En esta especie, durante el choque anafiláctico, es importante la degranulación de células cebadas presentes en el tejido conjuntivo -- del hígado (46).

Mucho se ha escrito acerca del origen de las células cebadas y de acuerdo con esta literatura se considera que se originan de los --- " mastoblastos " y éstos a su vez de las células mesenquimatosas indife- renciadas (22, 24 y 37).

Además, se ha establecido la concentración normal de las cél las cebadas en varios órganos, de diferentes especies animales (3, 5, - 14, 16, 20, 22, 23, 33 y 34).

Emerson y Cross (12), describen la distribución de éstas en la piel normal de los canideos, entre lo que mencionan el área perianal, pero sin referirse específicamente a los sacos anales.

El objetivo del presente trabajo, está encaminado a contribuir en el esclarecimiento de la localización de las células cebadas en los - sacos anales del perro, determinando si la diferente reacción metacromá- tica reportada por Canales (8), se debe a que son células precursoras de melanocitos como proponen Okun y Zook (39) o si en realidad son --- células cebadas en diferentes estados de diferenciación (43).

Este trabajo pretende proporcionar una información que llegue a ser de utilidad en el conocimiento de estas estructuras en el perro y dar un punto de partida para futuras investigaciones sobre los sacos --- anales.

MATERIAL Y METODO:

Se usaron 10 perros callejeros de diferente talla, edad, peso, sexo y raza, los que se numeraron del 1 al 10 progresivamente, siendo el número 3 un animal albino, posteriormente fueron sacrificados por electrochoque. Se recolectaron los sacos anales haciendo la disección de cada uno de ellos por separado, una vez obtenidas las muestras se fijaron en una solución acuosa de formalina al 10% buferada, después de 48 hrs. se procesaron en el Histoquinette Elliot se incluyeron en parafina, luego se hicieron cortes seriados de 5 micras de espesor; el material en estas condiciones se desparafinó y fué teñido para una orientación general con la técnica de Hematoxilina - Eosina.

Con el objeto de tratar de detectar de una manera más precisa la presencia de determinados compuestos intracelulares, los cortes desparafinados que no fueron utilizados para la técnica de Hematoxilina-Eosina se tiñeron con las siguientes técnicas:

1.- Acido Peryodico de Schiff (PAS) para determinar la presencia de carbohidratos (28).

2.- Acido Peryodico de Schiff (PAS) cortes tratados previamente con Diastasa para la determinación específica del Glucógeno (35).

3.- Fushina Aldehida sin pretratamiento oxidante para la determinación de sulfomucopolisacáridos (15).

4.- UNNA para determinar la presencia de substancias metacromáticas (sulfomucopolisacáridos) (28).

5.- Azul Alcian, para confirmar la presencia de sulfomucopolisacáridos (28).

6.- Azul Alcian-PAS, para determinar el tipo de Mucopolisacárido. (Según técnica, Vialli. 1956. Descrita por Gabe)(15).

7.- Azul de Tolouidina, Metilación, Saponificación para la confirmación de Mucopolisacáridos sulfatados (28).

8.- GROCOOTT para detectar la presencia de sustancias Reduc--
toras a la Plata. (28).

9.- FONTANA-MASSON con Preblanqueamiento con Peróxido de Hidró-
geno durante 24 horas utilizando cortes control sin preblanqueamien-
to; para determinar la presencia de Melanina (35).

10.- ZIEL NELSEN para la determinación de sustancias ácido -
resistentes (28).

11.- Azul nilo (técnica de Hueck. 1912. Descrita por Martoja)
para distinguir melaninas de cromolipoides (28).

12.- Sudan B. (técnica de Mc. Manus) 1946 descrita por Pearse
para determinar sustancias lipídicas (40).

13.- Acido Peryodico de Schiff (PAS) los cortes tratados pre--
viamente con Piridina pura durante 3 hs. a 37° C para comprobar la --
presencia de cromolipoides (15).

Las observaciones se efectuaron utilizando un microscopio de
campo claro Zeiss y las fotomicrografías fueron sacadas en un foto-
microscopio Zeiss.

Los campos de observación se dividieron en cuatro áreas:

A.- Que corresponde a las capas basales del epitelio de reves-
timiento.

B.- Refiriéndose al tejido conjuntivo de la lámina propia, in-
mediatamente debajo del epitelio de revestimiento.

C.- Corresponde al tejido conjuntivo localizado entre los tú-
bulos secretorios.

D.- Se refiere a las observaciones del epitelio de los túbu---
los secretorios.

RESULTADOS

Para hacer un reconocimiento de la estructura general al microscopio de los sacos anales del perro, se utilizó, a manera de --- orientación la observación de cortes teñidos con la técnica de Hematoxilina-Eosina. Los sacos anales del perro están constituidos por - las tres capas propias de los órganos huecos. La mucosa está formada por un epitelio estratificado plano con queratina y una lámina pro-- pia de tejido conjuntivo laxo con abundantes vasos sanguíneos, en la submucosa de tejido conjuntivo se localizan numerosos tubos glandulares del tipo apocrino y por último se observan haces musculares.

A partir de estas características y de las técnicas especiales mencionadas anteriormente se obtuvieron las siguientes observa-- ciones:

Los cuadros(1, 2, 3) muestran en forma esquemática y com-- parativa las características bioquímicas de los diferentes gránulos intracitoplasmáticos encontrados en las células.

AREA A

Con la Técnica de Hematoxilina-Eosina, se observa en las cé-- lulas basales del epitelio de revestimiento un pigmento de color ca-- fé en 9 de los 10 sujetos de experimentación, la muestra del perro - número 3 que era un animal albino, no presentó este pigmento (Fig.1), por otra parte, el pigmento se mantuvo constante con casi todas las técnicas usadas, variando el grado de intensidad de su color, que -- fué desde café hasta el negro (figs. 2 y 3).

En las muestras que fueron sometidas a un proceso de blan--- queamiento durante 24 hrs. por la acción oxidante del Peróxido de H₂O₂, el pigmento desapareció. Por otro lado este pigmento

resultó ácido resistente, reductor de las sales de plata, resistió la hidrólisis por metilación por 2 horas, fué altamente basófilo y resistió la digestión a la diastasa.

AREA B

En esta área se distinguieron unas células de forma variable a veces fusiformes y otras dendríticas, en cuyo citoplasma se observaron gránulos que reaccionaron en forma idéntica al pigmento que se presentó en el epitelio de revestimiento. Estas células se localizaron cerca de los vasos sanguíneos y en ocasiones muy cerca de la membrana basal del epitelio de revestimiento de los sacos anales. De manera que para que se facilite la discusión que posteriormente se hará, a este tipo les llamaremos CELULAS I. (fig. 2).

La muestra que se obtuvo del perro # 3 (albino) no poseía -- estas células (fig. 1).

También en esta área se observaron unas células fusiformes o redondas, cuyos gránulos pequeños mostraron una reacción metacromática del tipo BETA cuando se utilizaron técnicas que contienen en su fórmula colorantes del grupo de las TIAZINAS (ver cuadro 2). Estas células que denominaremos CELULAS II, se localizan por toda la lámina propia, pero en general se agrupan en fila por debajo del epitelio de revestimiento y cerca de los vasos sanguíneos (fig. 3).

Con el Azul de Toluidina a un pH de 4, la metacromasia desapareció cuando las muestras fueron sometidas a la hidrólisis por metilación no restaurándose después de la saponificación.

Por otra parte, los gránulos de las CELULAS II resultaron --- ser positivos al Azul Alcian (A.A.) y a la Fushina aldehida sin pretratamiento. Con la técnica de P.A.S. (ácido peryodico de Schiff) en los cortes seriados se observó que solamente algunas de estas células

fueron ligeramente positivas y cuando se usó la combinación P.A.S. - A.A. (Azul Alcian) los gránulos resultaron Azul Alcian positivos.

Estas CELULAS II se observaron en todas las muestras, aunque en las de perro No. 3 (albino) fueron más escasas.

En algunas ocasiones se observaron unas células con granulaciones del tipo I y del tipo II (Metacromática) (Fig.3) pero en la mayoría se presentaron los dos tipos de células muy juntas una a la otra.

AREA C

Las observaciones en esta área revelaron la presencia de numerosas células del tipo II, localizadas entre los tubos glandulares, en ocasiones cerca de los vasos sanguíneos y en otras cerca de la membrana basal de los tubos.

Además se determinó la presencia de un tercer tipo de células a las que denominaremos "III" que sus granulaciones intracitoplasmáticas reaccionaron con basofilia ortocromática en todas las técnicas que utilizan colorantes del grupo de las tiazinas (fig.4) esta basofilia ortocromática resistió la oxidación durante 24 horas con peróxido de hidrógeno (H_2O_2); con el azul de Toluidina a pH₄ la basofilia fué muy marcada y resistió la hidrólisis por metilación durante 2 horas; estos gránulos resultaron intensamente positivos al P.A.S., aún después del tratamiento con PIRIDINA a 37° C por 3 horas y de la digestión con DIASTASA; con la combinación P.A.S.-A.A. (Azul Alcian) los gránulos de estas células se tiñeron de un ROJO PURPURA (fig.5) estas células III reducen las sales de plata (fig. 6) son positivas al Azul Nilo (Técnica de HUECK), sus gránulos son sudanofílicos, altamente resistentes a los ácidos, en los cortes sin teñir estos gránulos poseen un color natural amarillo.

Las células del tipo III se observaron en todas las muestras, pero en grupos y entre determinados túbulos glandulares, por otra parte, se observaron algunas células que presentaban gránulos ---

metacromáticos (Beta) y otros ortocromáticos (alfa) a la vez.

AREA D

Las células secretoras de algunos túbulos presentaron en su citoplasma gránulos con características tintoriales semejantes a las células III (fig. 7), coincidiendo esto, en las áreas donde se localizó mayor cantidad de células III cerca de la membrana basal de los túbulos (fig. 8).

CUADRO 1 REACCIONES HISTOQUIMICAS DE LAS GRANULACIONES DE LOS DIFERENTES TIPOS CELULARES

AREA	No.MUESTRA	TIPO CELULAR	PAS	PAS DIASTASA	FUCHINA ALDEHIDA SIN PRETRATAMIENTO	PAS PIRIDINA	PAS AZUL ALCIAN
A	1 - 10 excepto 3	Epitelio	C	C	C	C	C
	No. 3	Epitelio	-	-	-	-	-
B	1 - 10 excepto 3	I	C	C	C	C	C
	No. 3	I	-	-	-	-	-
	1 - 10 excepto 3	II	±	-	P (I)	-	A.T.
	No. 3	II	±	-	P (I) (E)	-	A.T. (E)
C	1 - 10	II	±	-	P (I)	-	A.T.
		III	R	R	-	R	P.(I)
D	1 - 10	Epitelio de los tubos secretores	R	R	-	R	P. (I)

Café _____ C
Azul turqueza _____ A.T.
Rojo _____ R

Púrpura _____ P
Intenso _____ I
Negativo _____ (-)
(No toma ningún color)

Escasas _____ E
Variable _____ ±
(Algunas positivo débil otras negativo)

CUADRO 2 REACCIONES HISTOQUIMICAS DE LOS GRANULOS DE LOS DIFERENTES TIPOS CELULARES DE LOS SACOS ANALES (PERRO)

AREA	No.MUESTRA	TIPO CELULAR	UNNA	UNNA H ₂ O ₂	AZUL TOLOIDINA PH ₄	METILACION	SAPONIFICA- CION
A	1 - 10 excepto 3	Epitelio	A.(1)	B	A.(1)	A.(1)	A.(1)
	No. 3	Epitelio	-	-	-	-	-
B	1 - 10 excepto 3	I	A.(1)	B	A.(1)	A.(1)	A.(1)
	No. 3	I	-	-	-	-	-
	1 - 10 excepto 3	II	V	-	V	-	-
	No. 3	II	V.(E)	-	V.(E)	-	-
C	1 - 10	II	V	-	V	-	-
		III	A.O.	A.O.	A.O.	A.O.	A.O.
D	1 - 10	Epitelio de los tubos secretorios	A.O.	A.O.	A.O.	A.O.	A.O.

Azul _____ A
Violeta _____ V

Intenso _____ I
Negativo _____ (-)
(No toma ningún color)

Blanqueado _____ B
Escasas _____ E
Ortocromasia _____ O

CUADRO 3

REACCIONES HISTOQUIMICAS DE LOS GRANULOS DE LOS DIFERENTES TIPOS
CELULARES DE LOS SACOS ANALES (PERRO)

AREA	No. MUESTRA	TIPO CELULAR GRANULACIONES	GROCOTT	FONTANA MASSON	ZIEL NELSEN	HUECK (AZUL NILO)	SUDAN B
A	1 - 10 excepto 3	Epitelio	N	N	A (1)	-	C
	No. 3	Epitelio	-	-	-	-	-
B	1 - 10 excepto 3	I	N	N	A (1)	-	C
	No. 3	I	-	-	-	-	-
	1 - 10 excepto 3	II	-	-	V	-	-
	No. 3	II	-	-	V (E)	-	-
C	1 - 10	II	-	-	V	-	-
		III	C	C	P (1)	A(1)	N
D	1 - 10	Gránulos del epitelio tu- bos secreto- res	C	C	P (1)	A(1)	N

Café _____ C
Azul _____ A
Negro _____ N
Violeta _____ V

Púrpura _____ P
Intenso _____ I
Negativo _____ (-)
Escasas _____ E

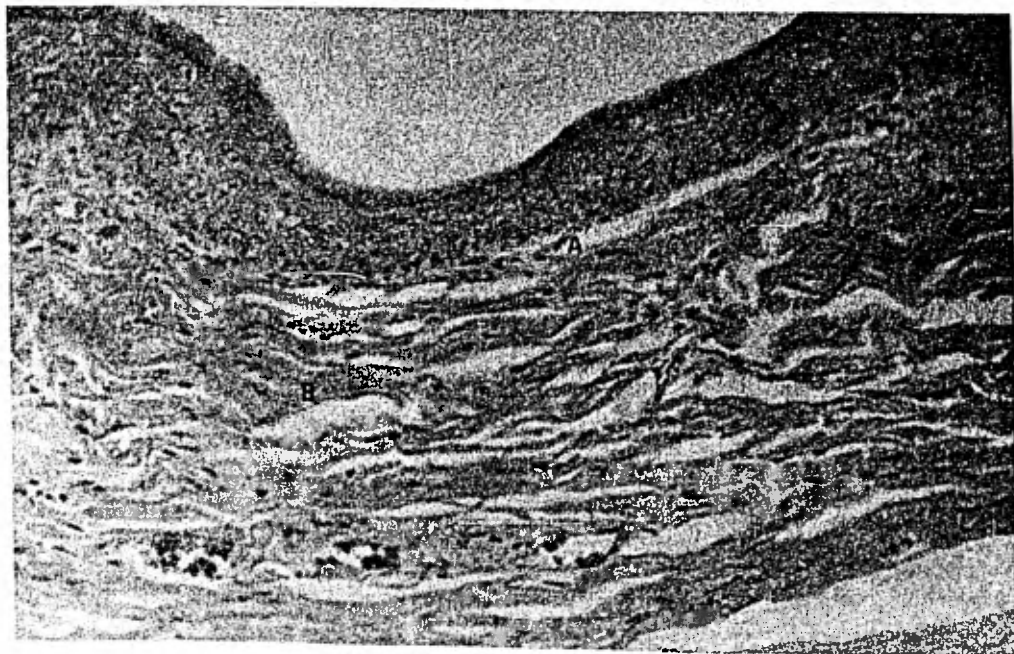


FIG. 1 AREA A y B FONTANA MASSON
MUESTRA No. 3 64X

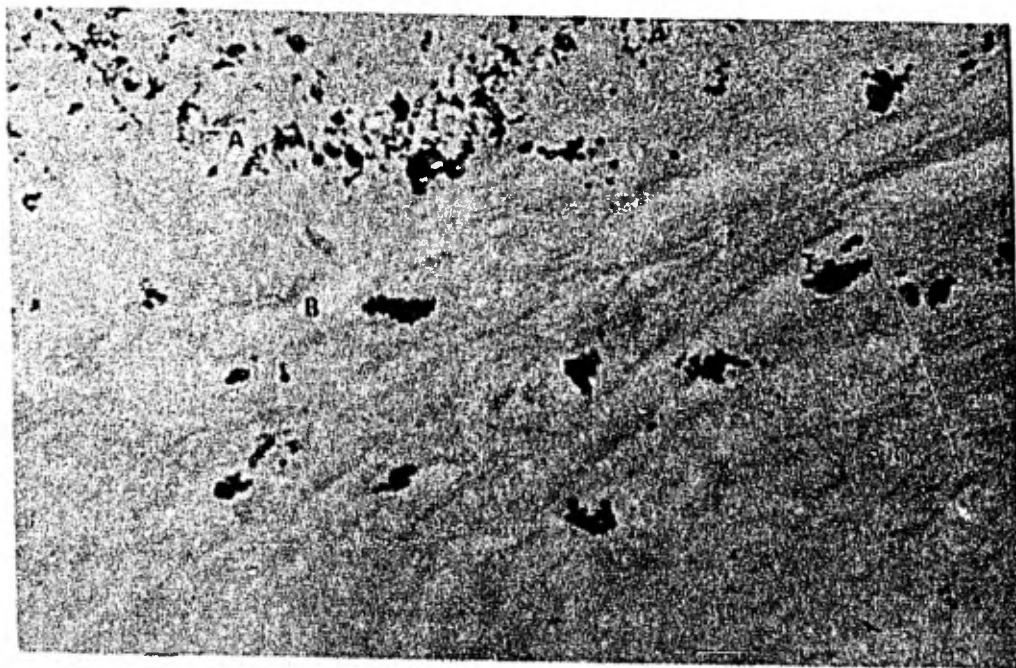


FIG. 2 AREA A y B FONTANA MASSON, CELULAS I
MUESTRA No. 1 64X

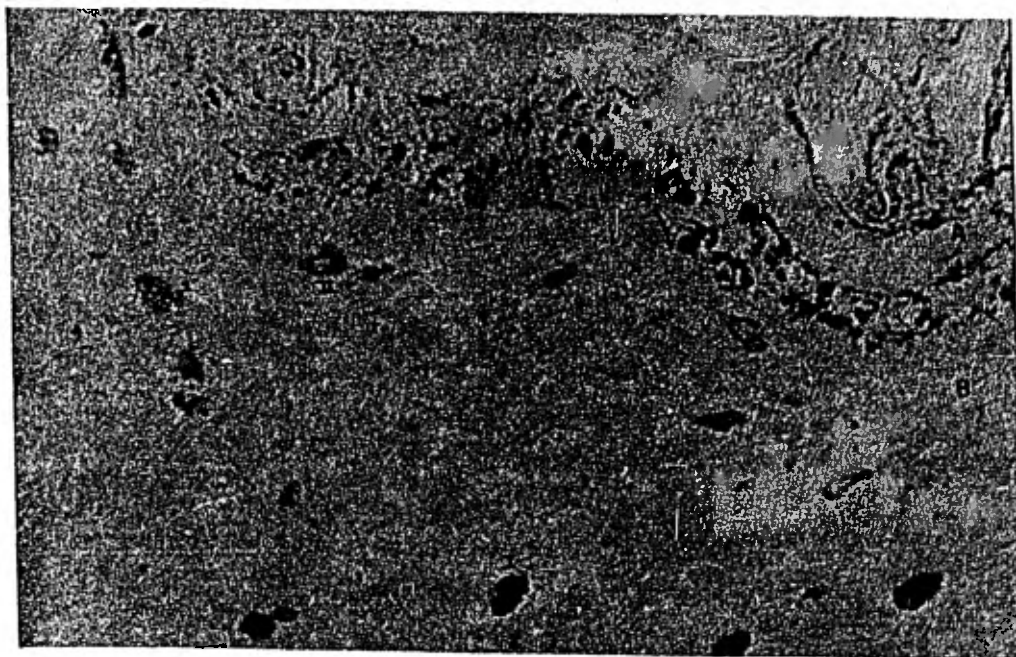


FIG. 3 AREA A y B CELULAS I CELULAS II
MUESTRA 2 UNNA 64X

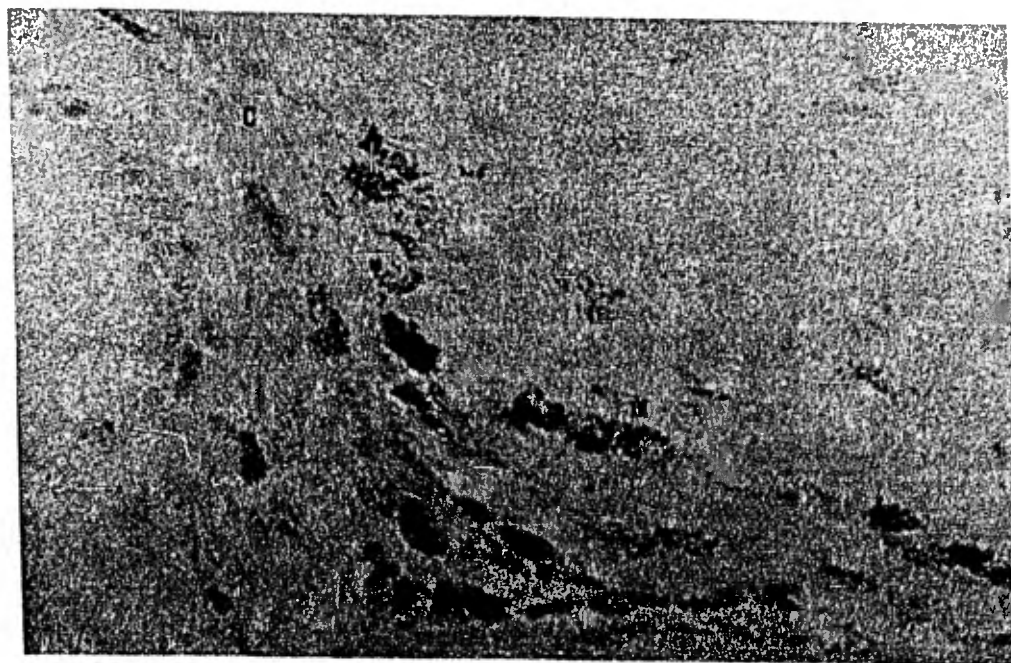


FIG. 4 AREA C CELULAS III (DESPUES DE METILACION)
MUESTRA 3 204.80X

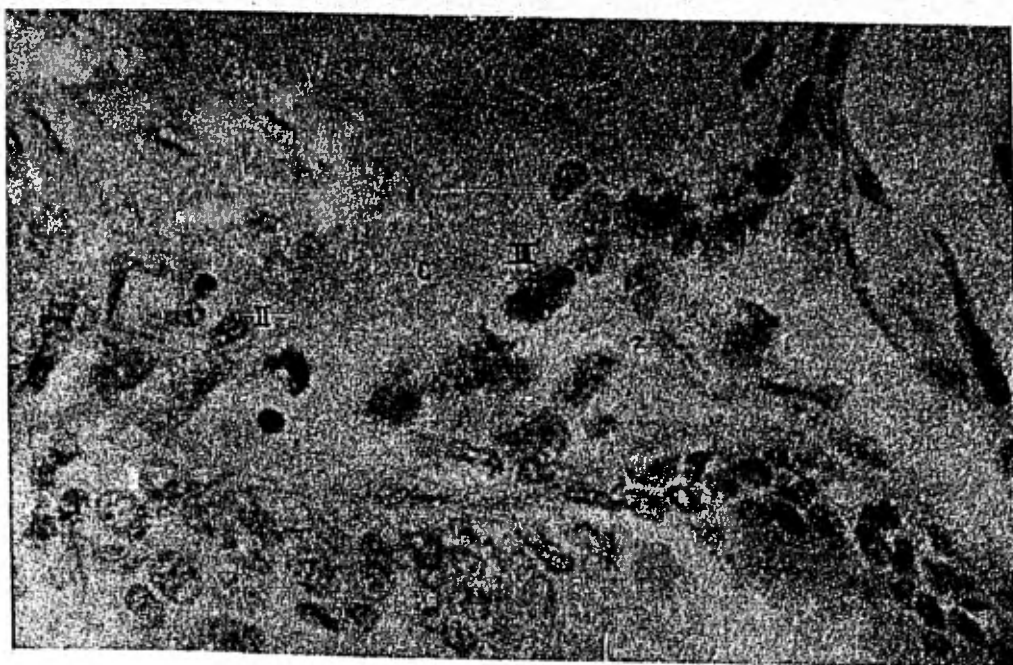


FIG. 5 AREA C CELULAS II CELULAS III

MUESTRA No.6 AZUL ALCIAN -P.A.S.

204.80X

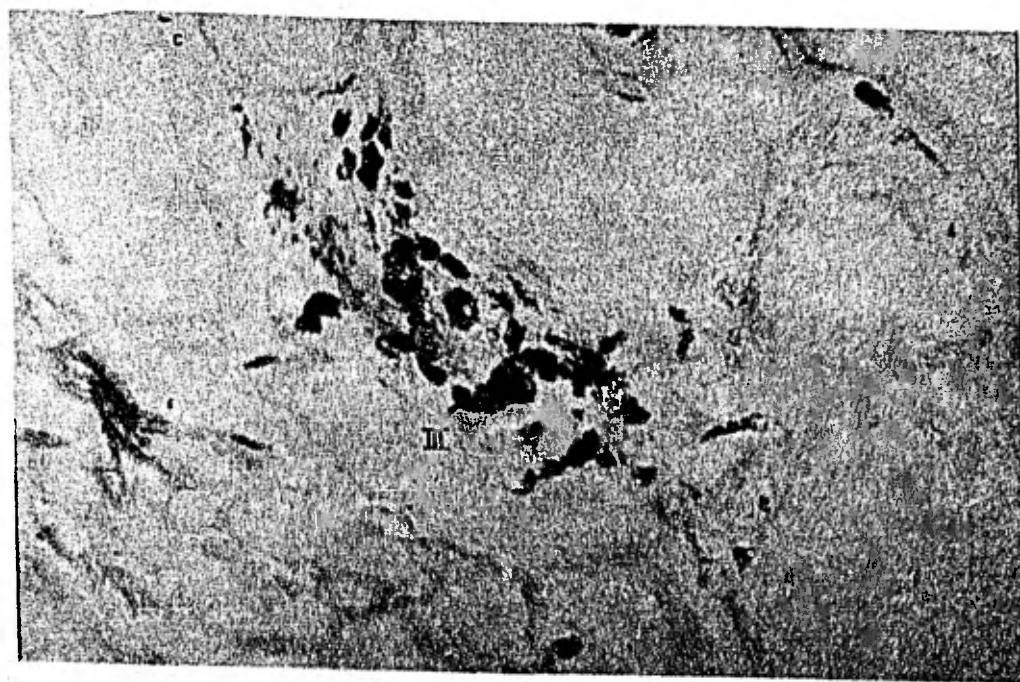


FIG. 6 AREA C CELULAS III CROCOTT

MUESTRA No. 5

64X

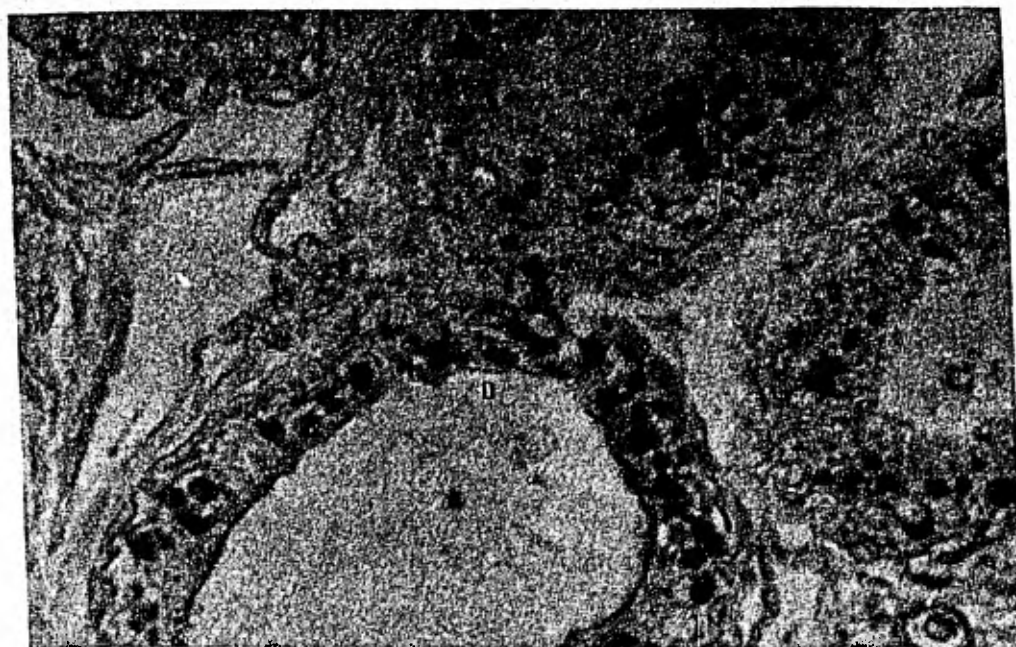


FIG. 7 AREA D. SUBSTANCIA AZUL NILO EN LAS CELULAS
DE LOS TUBOS SECRETORES

MUESTRA No. 6

64X

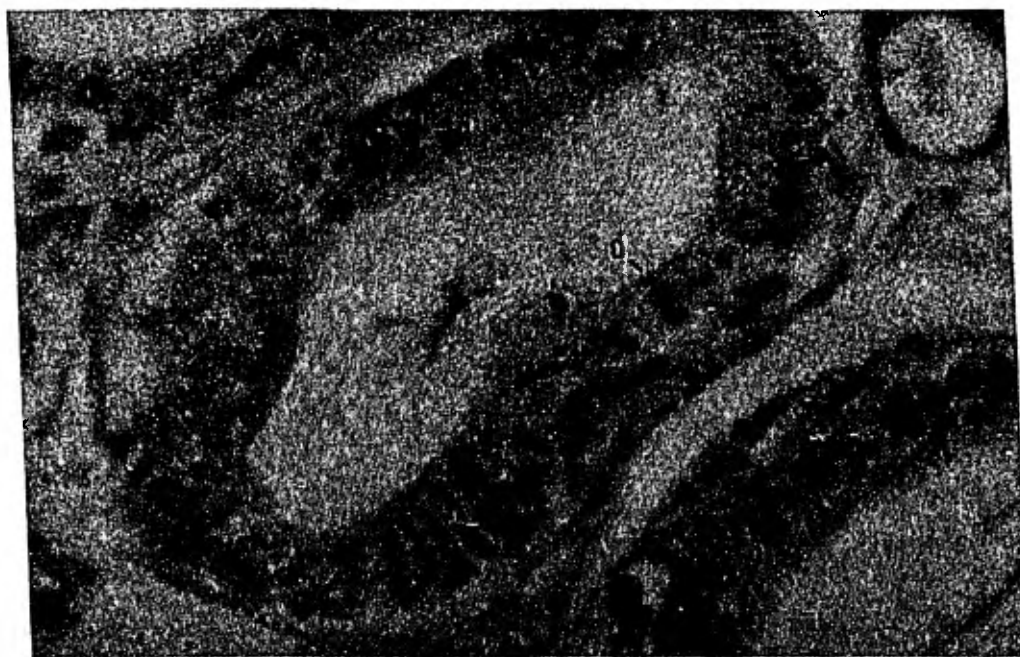


FIG. 8 AREA D P.A.S. DESPUES TRATAMIENTO CON PIRI-
DINA (LA FLECHA MUESTRA LOS GRANULOS P.A.S. +
DE LAS CELULAS DEL EPITELIO DE LOS TUBOS GLAN-
DULARES.

MUESTRA No. 5

64X

DISCUSION

En cuanto a la estructura general de los sacos anales se confirmaron las observaciones de Canales (8) en su descripción de éstos como órganos huecos, tal como se encuentra en los libros de texto de histología la estructura de un órgano de este tipo. Se aclara que ni Canales (8) ni el presente trabajo, mencionan a esto respecto la serosa o adventicia de los órganos huecos, ya que en este caso no existe por su localización anatómica.

Los resultados obtenidos proporcionan suficientes indicios -- para pensar que, el pigmento presente en las capas basales del epitelio de revestimiento (AREA A) es melanina. En primer lugar este pigmento no se presentó en la muestra No. 3 procedente de un perro albino. Además como se observa en los cuadros (2,3) este pigmento resultó insoluble en solventes orgánicos, fué blanqueado por agentes oxidantes en menos de 48 horas, cuando se aplicó el tratamiento con H_2O_2 , según las técnicas de HUECK. Resultó altamente reductor de las sales de plata en las técnicas de GROCOTT y FONTANA.

Resultados que concuerdan ampliamente con diferentes autores -- que aseguran que éstas son las características generales de las melaninas (15, 30, 31, 35 y 40).

Otra característica mencionada por esos autores es la basofilia de la melanina. En este trabajo el pigmento resultó de un tinte azul oscuro con los colorantes básicos (basofilia) tales como azul de toluidina, azul de metileno, etc.

Lillie (29) afirma que cuando las melaninas son blanqueadas -- completamente, la basofilia también se destruye. En este trabajo se obtuvieron resultados similares, cuando las muestras fueron blanquea-

das con peróxido de hidrógeno durante 24 hrs. y posteriormente teñidas con el método de UNNA, no mostraron el pigmento del epitelio. Lillie sugiere que la destrucción de la basofilia se debe a la presencia de grupos Acido Sulfúrico o Sulfónicos en el contenido de los -- gránulos. También se concuerda con este autor en lo que se refiere a la resistencia del pigmento a la digestión por parte de la DIASTASA.

De los trabajos de Amakiri (3) y Montagna (34) se deduce que la melanina depositada en la capa basal del epitelio de la piel tiene como función la protección contra el sol; la incógnita se encuentra en por qué o para qué hay melanina en los sacos anales. Esta --- cuestión parece ser aclarada si se piensa en el origen embrionario de los sacos. SCHWARZE (44) menciona que se originan a partir del ectodermo de la membrana cloacal, siendo éste el mismo origen de la piel, se deduce la razón, por la cual existe la misma pigmentación en el epitelio de los sacos que en la piel externa.

Las células I localizadas en el área B, por sus características tintoriales semejantes a las del pigmento del epitelio, sugieren que son melanocitos. Hay indicios de que la melanina de la piel humana, se forma en una capa reticular de melanocitos que se localiza -- sobre el borde entre la dermis y la epidermis (Adams, 1960) (2). Esto parece concordar con los resultados de Amakiri (3) que localizó melanocitos en la dermis de varias razas de bovinos y con los de Okum (37) que en casos de mastocitoma canino y urticaria pigmentosa, en contró entre la dermis y la epidermis, así como, alrededor de los va sos sanguíneos, células fusiformes o dendríticas cuyos gránulos fueron argirófilos y presentaron una coloración café verdosa oscura -- con GIEMSA los cuales interpretó como melanocitos.

Por la configuración, distribución y propiedades tintoriales de estas células, los resultados de este trabajo coinciden con estos autores de manera que se puede pensar que las células I son melanocitos, por otra parte Montagna (34) afirma que la función de los melanocitos es la de producir melanina para las capas basal de epitelio, se está de acuerdo con este autor en cuanto que las células I son melanocitos que producen el pigmento que se identificó en el epitelio como melanina.

Las células II localizadas también en el área B mostraron características típicas de lo que se describe como células cebadas (14).

Asboe-Hansen (5) y Okun (37) encuentran entre la epidermis y la dermis células cebadas, fusiformes con granulaciones débiles, además Riley (43) describe células similares a éstas cerca de los vasos sanguíneos de rata.

Por otra parte Emerson y Cross (12) haciendo un estudio de la distribución de las células cebadas en la piel normal del perro mencionan que presentan forma variable en la región perianal, asociándose a pequeños vasos sanguíneos y alrededor de las glándulas cebadas y apócrinas. En este trabajo se encontró que las células II concuerdan con las descripciones de estos autores, ya que a veces se localizan en fila debajo del epitelio y en otras en grupos asociados a los vasos sanguíneos; se cree que las células pequeñas con granulaciones discretas y metacromáticas con los colorantes del grupo de tiazinas, son células cebadas.

Desde Michels en 1938 (36) un gran grupo de autores (5, 8, 14, 15, 19, 22, 38) concuerdan en que los gránulos de las células ceba-

das presentan metacromasia, sin embargo, este fenómeno se presenta también con la presencia de otras diferentes sustancias en las granulaciones intracitoplasmáticas. Las pruebas histoquímicas realizadas, hacen pensar que los gránulos metacromáticos de las células II (cebadas) encierran polisacáridos ácidos con radicales ester sulfónicos como la heparina, ya que al someter las muestras a la metilación, la metacromasia desapareció no reapareciendo después de la saponificación.

Lison (31) menciona que la hidrólisis conducida en la metilación, suprime las propiedades metacromáticas porque elimina los radicales $-OSO_3H$, por otra parte, la reacción positiva con la fushina aldehida sin pretratamiento y al azul alcian se debe a grupos ácidos a base de azufre (15). De las sustancias que presentan grupos sulfúricos, la heparina es uno de los constituyentes del contenido de los gránulos de las células cebadas (5, 14, 26, 37 y 38).

La identificación de la heparina dentro de los gránulos de las células cebadas, llevó a Jaques y Waters (25) a determinar que la heparina presente en la sangre del perro después de choque anafiláctico proviene de las células cebadas del hígado, además Eda y Langeland (13) identificaron a la heparina como un mucopolisacárido sulfatado dentro de los gránulos de las células cebadas, por su metacromasia con el azul de Toluidina y su reacción positiva al azul alcian.

Por otra parte, Long (32) presenta como principio de la identificación de los grupos ácidos, la presencia de metacromasia; Jorpes y Gardell (26) consideran a la heparina como un mucopolisacárido más o menos esterificado con ácido sulfúrico, finalmente Silva y Dietrich (45) describen la estructura de la heparina como una cadena lineal compuesta por unidades repetidas de hexa u octasacáridos básicos, --

ellos demostraron que el disacárido trisulfatado es la unidad mayor de los disacáridos de la heparina, que comprende del 70% al 80% de su estructura total.

Otro punto adicional para pensar que los gránulos de las células (cebadas) contienen heparina, fué el resultado con la combinación azul alcian - ácido peryódico de Schiff (PAS) en la que las llamadas - células II tomaron el azul alcian. Gabe (15) afirma que con esta --- técnica, introducida por Vialli en 1956, las estructuras que aparecen en azul son grupos electronegativos y PAS negativos. Se sabe que en la heparina, 2 de los 3 grupos sulfato de cada disacárido son una fuerte carga electronegativa que presenta gran afinidad por las substancias - básicas (14). En los resultados del presente trabajo, los gránulos - de las células II (cebadas) reaccionaron negativamente o muy débil- mente al P.A.S.

Sin embargo, se ha admitido que los mastocitos registran re--- sultados contradictorios en los cuales, sus granulaciones han sido des- critas como P.A.S. negativas o débilmente positivas, en la mayoría de los animales (31). Sólo una proporción de las células cebadas demos- trable como tal por su metacromasia, se tiñe con el método de P.A.S. y en muchas de ellas el color desarrollado es muy débil (40).

Jorpes y colaboradores (26, 27) aislaron un ester monosulfú- rico de la heparina y discuten que es un polisacárido más o menos es- terificado, pero que no necesariamente esta esterificación de la hepa- rina es del mismo grado en todos los casos, ellos admiten que la hepa- rina con bajo contenido en sulfuros (Monosulfúrica) da una fuerte -- reacción al P.A.S., mientras que la más esterificada (TRISULFURICA)

en la cual los grupos sulfato ocupan 3 de los 4 grupos hidroxilo de la heparina, es negativa al P.A.S.

Eda y Langeland (13) encontraron en sus estudios sobre la lengua de rata y mono y el ligamento periodontal humano que las células cebadas resultaron ser P.A.S. positivas, considerando que contenían en el interior de sus gránulos heparina MONOSULFURICA inmadura; en este trabajo se encontró que las células cebadas fueron en su mayor proporción P.A.S. negativas y algunas veces muy débilmente positivas, por lo que se supone que se trata de heparina esterificada en mayor grado o menor grado respectivamente y con cierta actividad biológica.

Existen varias teorías sobre la finalidad de las células cebadas en la dermis. May en 1956 (mencionado en 37, 39 y 41) propuso que las células cebadas en las ratas elaboraban melanina bajo ciertas condiciones, más tarde Quevedo (41) estudiando varias cepas de ratones concluye que las células cebadas ni elaboran pigmentos de melanina ni contribuyen a la actividad melanogénica de los melanocitos.

Okun y colaboradores en varios artículos (37, 38 y 39) sostienen que las células cebadas son capaces de sintetizar melanina y que histogénicamente están relacionados con los melanocitos.

Más recientemente, Amakiri (3) concluye que en la piel de bovinos de razas tropicales las células DOPA positivas pueden ser cebadas, melanófagos y melanocitos activos, ya que el patrón de distribución de las cebadas en estas razas fué similar al de las células DOPA positivas.

En el presente trabajo, basándose en las observaciones del perro No. 3 (albino) y en el cual no se presentó la melanina en el epitelio y que no se encontró melanocito alguno, pero sí se localiza-

ron células cebadas con granulaciones metacromáticas, aunque su número fué menor y sus gránulos resultaron ser más débiles que en las --- otras 9 muestras; se llega a pensar en que posiblemente exista alguna relación entre determinados grupos de células cebadas y los melanocitos, sin embargo, se sugiere la utilización de otros métodos convincentes para asegurar esta hipótesis, como la demostración histoquímica de la presencia intracitoplasmática de enzimas específicas para la síntesis de melanina.

En las células III localizadas en el conjuntivo intersticial de los tubos glandulares se observaron granulaciones con basofilia -- ORTOCROMÁTICA, con todas las técnicas que emplean colorantes del grupo de las Tiazinas.

Se admite (15 y 40) que es posible reconocer 3 variedades de metacromasia en histoquímica, basándose en la curva de observación -- espectral de los colorantes del grupo de las tiazinas:

- 1.- La metacromasia alfa o monomérica, que produce un tinte azul ORTOCROMÁTICO.
- 2.- La metacromasia beta o Dimérica, que produce un tinte --- violeta.
- 3.- La metacromasia gamma o Polimérica, que produce una coloración roja púrpura.

Gabe (15) menciona que los cromolipoides, (lípidos ácidos), reaccionan produciendo, una basofilia ortocromática con el azul de -- Toluidina la cual es ácido resistente. Pearse (40) afirma que se debe a los grupos carboxilos de los ácidos grasos no saturados.

Los cuadros 1, 2, 3, muestran que el grupo de células III entra

en esas descripciones, cuando se usó el ziesel - nielsen, además, la basofilia ortocromática presentada con el azul de Toluidina en la técnica de UNNA, resistió el tratamiento con peróxido de hidrógeno durante 24 horas y más, sin que se presentara blanqueamiento, comprobándose la misma reacción con la técnica de HUECK para distinguir la melanina de los cromolipoides, se observó que el azul nilo persistió aún después de la oxidación.

En estas y otras pruebas para la metacromasia, las células - III se distinguieron fácilmente por su ortocromasia de las células - II metacromáticas, indicando claramente que son dos tipos de células con reacciones diferentes. Al emplear la técnica de P.A.S., estas -- células presentaron granulaciones que fueron fuertemente positivas, resistieron a la digestión por parte de la DIASTASA, lo que descarta la presencia del glicógeno, también fueron resistentes a la PIRIDINA durante 3 hrs. lo que hace pensar cada vez más en la posibilidad de -- la presencia de ácidos grasos no saturados.

Riley (42) encontró en la rata, células con granulaciones -- ortocromáticas y P.A.S. positivas y otras células con gránulos metacromáticos y P.A.S. débilmente positivas, este autor sugiere que las ortocromáticas son células cebadas que contienen heparina monosulfúrica y las metacromáticas contienen heparina trisulfúrica.

Aunque los resultados del presente trabajo son similares, no se está totalmente de acuerdo con Riley, en lo que se refiere a las células ortocromáticas, porque cuando se ha practicado la técnica de la combinación azul alcian-P.A.S., las células II tomaron el azul -- alcian, en tanto que las células III tomaron un color púrpura oscuro

Según Gabe (15) cuando se presenta este fenómeno, se trata de la presencia de sustancias que contienen grupos ácidos responsables de la basofilia y grupos VIC - GLICOL responsables de la reacción --- P.A.S. positiva. Además, las células III fueron Sudanofílicas y redujeron las sales de plata, características de los cromolípoides.

Por otra parte, Fernex (14) después de hacer un análisis de los trabajos de varios autores sobre las células cebadas, concluye -- que, éstas pueden influenciar el desdoblamiento de lípidos, ya que el transporte de éstos se acelera por pequeñas cantidades de heparina. Asboe-Hansen (5) menciona algunos autores que han demostrado histo-- químicamente la presencia de grasa en los gránulos de las células cebadas, por medio del Sudán Negro B.

Se cree que las células II (cebadas) son precursoras o acti-- vadoras de las células III, puesto que la mayor parte se localizan -- muy cercanas, ya sea alrededor de los vasos sanguíneos o a nivel de -- la membrana basal de las unidades secretoras.

Montagna y Parks (33) hicieron un estudio histoquímico de las glándulas de los sacos anales del perro y encuentran que las células cebadas presentes en el tejido conjuntivo de los intersticios de los -- tubos secretores, poseían granulaciones negras después del tratamiento con HEMATEINA ACIDA, resultado que significa la presencia de sustancias lipídicas, reportan la presencia de este tipo de sustancias en las células de los tubos secretores de las glándulas apócrinas.

En este trabajo se encontró que en el área D, algunas de las -- células de los tubos secretores mostraron en su citoplasma gotas ó -- gránulos con idénticas características TINTORIALES a las presentes --

en las células III. Lo que hace suponer que las células III están en alguna forma involucradas en la síntesis de parte del contenido de los sacos anales.

Baker (7) menciona que la secreción total de los sacos anales contiene el 88% de agua y 12% de materia seca, la cual está constituida por: colesterol, fosfolípidos, lípidos aldehidos, grasas neutras y ácidos grasos.

Además Montagna y Parks (33) reportan que en la secreción total hay: grasas neutras, colesterol, fosfolípidos, plasmalógenos y ácidos grasos.

La presencia de ciertas sustancias lípidas es indiscutible por las observaciones realizadas a nivel de los tubos apócrinos, ya que aparte del grupo de técnicas mencionadas anteriormente, se observó que en las muestras que fueron sometidas a técnicas fuertes tales como Ziehl-Nielsen y Piridina (impregnación en) se presentaron espacios vacíos, indicando la presencia de lípidos solubles.

Tomando en cuenta los resultados obtenidos con las reacciones histoquímicas puede estimarse que las poblaciones de células cebadas de los sacos anales de los perros juegan un papel en la formación de diferentes sustancias.

Sin embargo, son necesarias mayores evidencias para asegurar la función de estas células.

CONCLUSIONES

- El pigmento de las capas basales del epitelio de revestimiento se identificó como melanina.
- Un número de células pigmentadas identificadas como melanocitos.
- En las muestras del perro número 3 no se identificó ni melanina ni melanocitos.
- Se encontraron dos tipos de células cebadas.
Unas con gránulos metacromáticos relacionadas con los melanocitos.
Otras relacionadas con la formación de cromolipoides.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Adam S. W. Microscopy Anatomy of the Dog. Charles C. Thomas. Illinois, U.S.A. 1970.
- 2.- Adams-Ray J., G. Bloom and Ritzén M. Cells with Autofluorescent Granules in Dermis of Human skin and their Correlation to Degree of Pigmentation. Acta Morph Neirl Scand 3: 131-134 (1960).
- 3.- Amakiri S.E. Melanin and dopa-positive cells in the skin of tropical cattle. Acta anat. 103: 434-444 (1979).
- 4.- Archibald James. Canine Surgery. American Veterinary Publications. Santa Bárbara, Calif. U.S.A. 1974.
- 5.- Asboe H. G. The Mast Cell. Internat. Rev. Cytol. 3: 399-435 (1954).
- 6.- Asboe H. G. and Wegelius O. Serotonin and Connective Tissue. Nature 178: 262 (1956).
- 7.- Baker E. Diseases and therapy of anal sacs of the dog. J.A.V.M.A. - 141: 1347-1350 (1962).
- 8.- Canales V.L. Contribución al estudio morfológico de los sacos anales del perro (*Canis familiaris*). Tesis de licenciatura. Fac. de -- Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1980.
- 9.- Code C.F. Histamine and gastric secretion. Ciba Foundation Symposium. Churchill, London, 1956.
- 10.- Detrik L.E. Mucopolysaccharides In post-irradiation Intestinal absorption studies. Ann. N. V. Acad. Sci. 106: 636-645 (1963).
- 11.- Doty R.L. and Dumbar I. attraction of Beagles to Conspecific Urine, Vaginal and Anal Sac Secretion Odors. Physiology and Behavior. 12: 825-833 (1974).

- 12.- Emerson J. L. and Cross R.F. The Distribution of Mast-Cells in normal Canine skin. Am. J. Vet. Res. 26: 1379-1382 (1965).
- 13.- Eda Shigeo and Langeland Kaare. The alteration of mast cell staining to various fixatives and de mineralizing agents. Scand J. dent.Res. 78: 217-231 (1970).
- 14.- Fernex Michel. The Mast-Cell System. Williams and Wilkins. Baltimore, 1967.
- 15.- Gabe M. Techniques Histologiques. Masson Cie. Germain. 1968.
- 16.- Gerish D. und Neurand K. Topographie und Histologie der Drusen der -- Regio analis der Hundes Anat. Histol. Embryol. 2: 280-294 (1973).
- 17.- Halnan C.R.E. The diagnosis of anal saculitis in the dog. J. Small -- Anim. Pract. 17: 527-535 (1976).
- 18.- Halnan, C.R.E. The frequency of occurrence of anal saculitis in the dog. J. Small Anim. Pract. 17: 537-541 (1976).
- 19.- Hals E. Some Methods for fluorochromation and staining of rat Mast -- Cells with basic dyes. Scand J. dent. Res. 78: 301-310 (1970).
- 20.- Harpal S. Bal. The skin: in Dukes Physiology of Domestic Animals. --- Nenth ed. Mevion J. Swenson. Ithaca and London. 499-504. 1977.
- 21.- Harvey E. C. Incidence and Distribution of Anal Sac Disease in the -- Dog. Anal Sac Disease. 10: 573-576 (1974).
- 22.- Héroux O. Mast Cells in the skin of the ear of the rat exposed to --- cold. Canad J. Biochem. Physiol. 39: 1871-1878, (1961).
- 23.- Ishizaka T. et al. Development of rat Mast Cells in vitro J. of. Immu nol. 116: 747-754 (1976).
- 24.- Isitor G. N. and Weinman D.E. Origin and early development of canine circumanal glands. Am. J. Vet. Res. 40: 487-492 (1979).
- 25.- Jaques L. B. and Waters E. T. The identity and origin of the anticoag

- gulant of anaphylactic shock in the dog. J. Physiol Lond 99: 454-466 (1941)
- 26.- Jorpes E. and Gardell S. On Heparin Monosulfuric Acid. J. Biol. Chem. 176: 267-276 (1948).
- 27.- Lecomte J. P. Sur les réactions allergiques de type immédiat. Int. -- Arch. Allergy. 18: 3-38 (1961).
- 28.- Lee G. Luna H. T. (ASCP). Manual of Histologic Staining Methods of -- the Armed Forces. Third editions. Mcgrawhill book. New York. 1968.
- 29.- Lillie R.D. The Basophilia of melanins J. Histochem. Cytochem 3: - - 453-454 (1955).
- 30.- Lillie R.D. and Fullmer H.M. Histopathologic Technic and Practical -- Histochemistry Fourth Edition Mc Graw Hill Inc. N. Y. 1976.
- 31.- Lison L. Histochemie et Cytochimie Animales. Principes et Méthodes. Troisième édition. Vol. 1 et 2. Gauthier Villias. Paris 1960.
- 32.- Long C. Biochemists' Handbook. D. Van Nostrand Company Inc. Princeton, New Jersey, U.S.A. 1961.
- 33.- Montagna W. and Parks H. F. a histochemical study of the glands of -- the anal sac of the dog. Anat. Rec. 100: 297-315 (1948).
- 34.- Montagna W. Beaverton O. Cutaneous Comparative Biology. Arch. Derm. 104: 577-591 (1971).
- 35.- Martoja R. y Martoja M. Técnicas de Histología Animal. Toray-Masson Barcelona, España 1970.
- 36.- Michels N.A. The Mast Cell. In: Dawney Hand book of Hematology. New York. 1938.
- 37.- Okun M.R. Histogenesis of Melanocytes. J. Invest. Derm. 44: 285-299 (1965).
- 38.- Okun M.R. and Chorzelski T. Metachromatic granules in dendritic cells

- within epithelial structures in Alopecia Mucina. J. Invest. Derm. 45: 129-131 (1965).
- 39.- Okun M.R. and Zook B.C. Histologic Parallels Between Mastocytoma and Melanoma. Arch. Derm. 95: 275-286 (1967)
- 40.- Pearse A.G.E. Histoquímica Teórica y Aplicada. Aguilar. Madrid - España. 1960.
- 41.- Quevedo W.C. Lewis Y.S. and Smith D.E. On the relationship of -- mast cells and melanocytes. J. Invest. Derm.: 133-136 (1958).
- 42.- Riley J. F. The relationship of the tissue mast Cells to the --- blood vessels in the rat. J. Path. Bact. 65: 461-469 (1953).
- 43.- Riley J. F. and West G.B. The presence of histamine in tissue -- Mast Cells. J. Physiol. Lond. 120: 528-537 (1953).
- 44.- Schwarze E. Compendio de Anatomía Veterinaria. ed. Acribia, tomo VI, 330, (1970).
- 45.- Silva M. E. Dietrich C.P. Structure of Heparin. J. Biol. Chem. - 250: 6841-6846 (1975).
- 46.- West G. B. Mast Cells and anaphylaxis. Lancet 1332 (1964).

