



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

ESTUDIO HISTOLÓGICO DE LOS MASTOCITOS EN
SACOS ANALES DE PERROS ADULTOS JÓVENES Y
ADULTOS MAYORES

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A:

JOSÉ LUIS DELGADO RAMIREZ

ASESOR: M.V.Z. DR. EN C. MARIO PÉREZ MARTÍNEZ



MÉXICO, D.F. A 30 DE JUNIO DE 2010



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

A mis padres por todo el apoyo y el amor incondicional que me han dado.

A mi esposa por todo su amor y comprensión.

A mi mis hijos y nietos por su apoyo.

A mis hermanos y a mis tíos.

A la U.N.A.M. por todo lo que en ella aprendí.

Agradecimiento

Una especial agradecimiento al MVZ, Dr. en C. Mario Pérez Martínez quien fue mi asesor de tesis y de quien recibí todo el apoyo para la realización de la misma.

Al técnico en histología Francisco López López por el apoyo brindado y asesoría en el procesamiento histológico en el laboratorio de investigación “Rosa Emilia Lavielle” del departamento de Morfología de la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M.

A mí jurado por el tiempo y dedicación a la revisión de mi trabajo de tesis:

M.V.Z. Santiago René Anzaldúa Arce

M.V.Z. Laura Patricia Romero Romero

M.V.Z. Martha Beatriz Hernández Arellano

M.V.Z. Mario Pérez Martínez

M.V.Z. Gerardo Federico Quiroz Rocha



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES
EXÁMENES PROFESIONALES

Ciudad Universitaria, D.F., a 17 de febrero de 2010

A LOS MIEMBROS DEL JURADO
Presente.

Por ser usted integrante del jurado del Examen Profesional del alumno (a):
JOSÉ LUIS DELGADO RAMÍREZ

solicito atentamente le revise el trabajo escrito, para que agregue sus puntos de vista o le dé su aprobación sin modificaciones en un plazo no mayor de 15 días hábiles (de acuerdo al artículo 14, del Reglamento de Titulación para la Licenciatura, FMVZ).

		MODIFICACIONES
PRESIDENTE	MVZ. SANTIAGO RENÉ ANZALDÚA ARCE <u>[Firma]</u> 17/02/2010 FIRMA Y FECHA DE RECEPCIÓN	CON () SIN <input checked="" type="checkbox"/> <u>[Firma]</u> 4/03/2010 FIRMA Y FECHA DE APROBACIÓN
VOCAL	MVZ. LAURA PATRICIA ROMERO ROMERO <u>[Firma]</u> 17/02/10 FIRMA Y FECHA DE RECEPCIÓN	CON () SIN <input checked="" type="checkbox"/> <u>[Firma]</u> 16/04/2010 FIRMA Y FECHA DE APROBACIÓN
SECRETARIO	MVZ. MARTHA BEATRIZ HERNÁNDEZ ARELLANO <u>[Firma]</u> 17/02/10 FIRMA Y FECHA DE RECEPCIÓN	CON () SIN <input checked="" type="checkbox"/> <u>[Firma]</u> 4/03/2010 FIRMA Y FECHA DE APROBACIÓN
SUPLENTE	MVZ. MARIO PÉREZ MARTÍNEZ <u>[Firma]</u> 16/02/10 FIRMA Y FECHA DE RECEPCIÓN	CON () SIN <input checked="" type="checkbox"/> <u>[Firma]</u> 12/03/2010 FIRMA Y FECHA DE APROBACIÓN
SUPLENTE	MVZ. GERARDO FEDERICO QUIROZ ROCHA <u>[Firma]</u> 17/02/10 FIRMA Y FECHA DE RECEPCIÓN	CON () SIN <input checked="" type="checkbox"/> <u>[Firma]</u> 14/04/10 FIRMA Y FECHA DE APROBACIÓN

Título:
TESIS Y EXAMEN PROFESIONAL
ESTUDIO HISTOLÓGICO DE LOS MASTOCITOS EN SACOS ANALES DE PERROS ADULTOS JÓVENES Y ADULTOS MADUROS.

MVZ. MARIO PÉREZ MARTÍNEZ _____
Aprobación final del asesor / tutor: _____

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Jefa de la División

RECIBI
VIRGINIA

INDICE

	Página
I. RESUMEN.....	1
II. ABSTRACT.....	2
III. INTRODUCCIÓN.....	3
IV. HIPÓTESIS.....	11
V. OBJETIVOS.....	12
VI. MATERIAL Y MÉTODOS.....	13
VII. RESULTADOS.....	15
VIII. DISCUSIÓN.....	18
IX. CONCLUSIÓN.....	21
X. REFERENCIAS.....	24

Resumen

Con el propósito de estudiar la población de mastocitos (MC) en los sacos anales de perros adultos jóvenes y adultos maduros, se realizó el conteo de estas células en cortes de tejido procesado con la técnica de inclusión en parafina y teñidos con azul de Toluidina, alrededor de las glándulas apócrinas en el espacio intersticial existente entre ellas. El tamaño de los MC y el grado de reacción metacromática a la tinción de azul de toluidina fué variable, algunas mostraron una reacción metacromática débil y en otros casos fue muy intensa. El promedio de MC en 12 campos microscópicos para el grupo de perros adultos jóvenes fue de 18.16 ± 7.58 (n=12 perros) y para el grupos de adultos maduros fue de 73.75 ± 16.29 (n=12 perros). Al comparar ambos grupos con la prueba de U Mann-Withney se encontró que son significativamente diferentes ($P < 0.0001$). Estos resultados apoyan la hipótesis de que la edad es un factor determinante en la susceptibilidad de los individuos a padecer procesos inflamatorios. El presente estudio representa una evidencia histológica respecto a la existencia de una población mayor de MC en los sacos anales de perros adultos maduros, lo que puede hacer a este tejido más reactivo a una reacción inflamatoria inducida por diversos factores etiológicos, tales como alteraciones en la dieta, obesidad y diarrea crónica.

Palabras clave: perro, sacos anales, mastocitos, edad, histología.

Histological study of mast cells in anal sacs of young and older adult dogs.

Abstract

In order to study the population of mast cells (MC) in the anal sacs of young adults and mature dogs, these cells were counted in the interstitial space of the apocrine glands. The size of the MC and the degree of the metachromatic staining reaction was variable, some showed a weak metachromatic reaction, while in others it was quite intense. The average of MC for the group of young adult dogs was 18.16 ± 7.58 (n = 12 dogs) and for the mature group was 73.75 ± 16.29 (n=12 dogs). When comparing both groups with the U Mann-Whitney test, they were significantly different (P <0.0001). These results support the hypothesis that age is a determining factor in the susceptibility of individuals to suffer from inflammatory processes. This study represents a histological evidence regarding the existence of a larger population of MC in the anal sacs of mature adult dogs, which may make this tissue more responsive to an inflammatory reaction induced by various etiological factors such as alterations in diet, obesity and chronic diarrhea.

Key words: dog, anal sacs, mast cells, age, histology.

Introducción

La piel y las mucosas son las superficies corporales que tienen mayor contacto con el medio. Los principales sitios involucrados en la protección inmunológica de la piel, son la región perivascular dérmica y la epidermis (1). Por otra parte, en los animales la piel desempeña un papel importante en la comunicación. Los cambios en sus características físicas, como el color y tamaño, van acompañados de mensajes. En muchas especies de monos, el color de la piel en la región anogenital y alrededor de los ojos, puede indicar estados de miedo, enojo, o cambios drásticos en su ciclo sexual. De igual manera las glándulas de la piel productoras de olor son importantes en los mecanismos de comunicación entre los individuos (2,3).

Los sacos anales son invaginaciones cutáneas que alojan a las glándulas apocrinas anales, que vacían su contenido a la luz. Las secreciones son comunes en los carnívoros y favorecen la atracción sexual, y en ocasiones funcionan como mecanismos de defensa. Los perros marcan los objetos con una mezcla de orina y de secreciones glandulares para comunicar territorialidad, identidad y otros tipos de mensajes (2, 4).

Aspectos morfológicos de los sacos anales

La región del intestino llamada ano, corresponde al extremo caudal del recto. En carnívoros, su mucosa presenta un epitelio que experimenta una transición de epitelio cilíndrico simple a plano estratificado queratinizado, con algunas glándulas sebáceas y glándulas tubulares ramificadas llamadas glándulas perianales. La capa interior circular de la túnica muscular está muy engrosada y forma el esfínter interno del ano; por debajo de éste se encuentra una capa circular de músculo estriado que forma el esfínter externo.

Los sacos anales del perro se localizan ventrolateralmente al ano, entre los esfínteres interno y externo (Figura 1). Las glándulas de los sacos anales son apocrinas tubuloalveolares. Este fondo de saco secreta un líquido maloliente, que drena a través de un ducto único en una abertura cercana al limbo anocutáneo (Figura 2).

Los sacos se comprimen con la defecación, expeliendo la secreción, la cual es expulsada a través de conductos durante la defecación normal y estados de excitación extrema, por lo que para el vaciamiento del saco anal se requieren contracciones enérgicas del esfínter (5,6,7).



Figura 1. Localización anatómica de los conductos excretores de los sacos anales del perro.

o

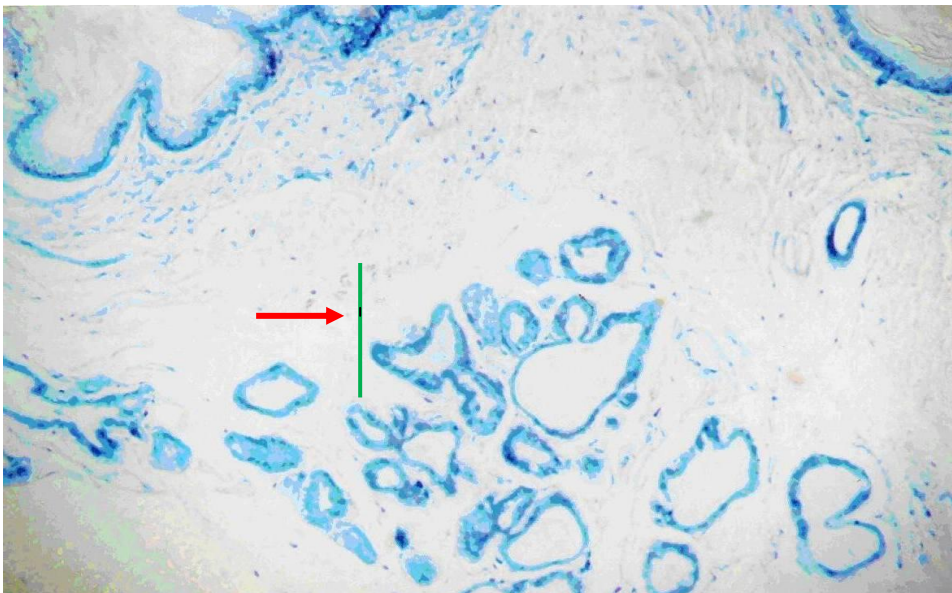


Figura 2. Fotomicrografía de corte histológico de saco anal de perro adulto joven. Se observan glándulas de tipo apócrino tubuloalveolar (flecha) inmersas en el tejido conjuntivo estromal. Tinción de Azul de Toluidina, 40X.

Importancia clínica del estudio de los sacos anales

La impactación de los sacos anales es una condición clínica frecuente en perros adultos. Consiste en la acumulación anormal de secreciones en el saco anal y es secundaria a la inflamación, infección u obstrucción de los conductos (8).

La causa específica de las enfermedades de los sacos anales no se conoce de manera precisa; se considera que está asociada a alteraciones que estimulan su vaciado inadecuado, lo que en condiciones normales debería ocurrir durante la defecación, por lo que la retención anormal de secreciones del saco anal conlleva al desarrollo de estreñimiento. Sin duda, las enfermedades de los sacos anales en pequeñas especies son las más frecuentes de la región perineal.

Además de estas patologías en los sacos anales, pueden presentarse procesos neoplásicos, como el adenocarcinoma de glándulas apócrinas que se presenta predominantemente en perras de edad avanzada (9). Asimismo, se puede presentar el carcinoma de células escamosas en el epitelio escamoso estratificado de los sacos anales (10).

Se ha estimado que la inflamación de los sacos anales o saculitis anal, se presenta en aproximadamente el 10% de los perros. La obstrucción ductal conduce a infección bacteriana e inflamación y las secreciones actúan como un medio ideal para la proliferación bacteriana (8,11).

Otros factores que pueden ocasionar hipersecreción crónica de los sacos anales comprenden cambios hormonales, reacciones alérgicas, diarrea crónica, disminución del tono muscular en perros pequeños y obesos; además, la saculitis anal puede estar asociada con dermatitis seborréica u otras dermatosis (8). La saculitis anal en los perros puede presentarse en individuos de cualquier edad, raza o sexo, sin embargo, a nivel clínico se presenta con mayor frecuencia en individuos adultos maduros (9).

Es de llamar la atención que algunos autores han propuesto que los animales que estuvieron recientemente en estro, pueden presentar irritación anal, debido a que el animal camina sentado, se lame e intenta morder la base de la cola, lo que podría representar otro factor asociado a esta alteración (8).

Importancia de los mastocitos en la inflamación tisular

Los mastocitos (MC) se forman en la médula ósea a partir de células pluripotenciales. En su superficie presentan capacidad de adhesión a la matriz extracelular, receptores de respuesta inmune y otros receptores que le dan la capacidad de reaccionar a múltiples estímulos. Los MC pueden tener una respuesta inmediata o una respuesta en fase tardía; en la primera, se secretan en pocos minutos sustancias almacenadas en sus gránulos, mientras que la segunda, implica la síntesis de *novo* (2-4 horas) de mediadores (leucotrienos, prostaglandinas) que participan en la respuesta inflamatoria (12).

Morfológicamente los MC se caracterizan por presentar gran número de gránulos en su citoplasma; participan en la respuesta inflamatoria tisular debido a que son la principal fuente de histamina y de otros mediadores químicos; estas células tienen la capacidad de responder a distintos antígenos por la vía dependiente e independiente de IgE (6,13). En la vía dependiente de IgE, el antígeno llega a los MC sensibilizados lo que causa su degranulación y como consecuencia se liberan factores vasoactivos que aumentan la permeabilidad vascular (14). (Figura 3).

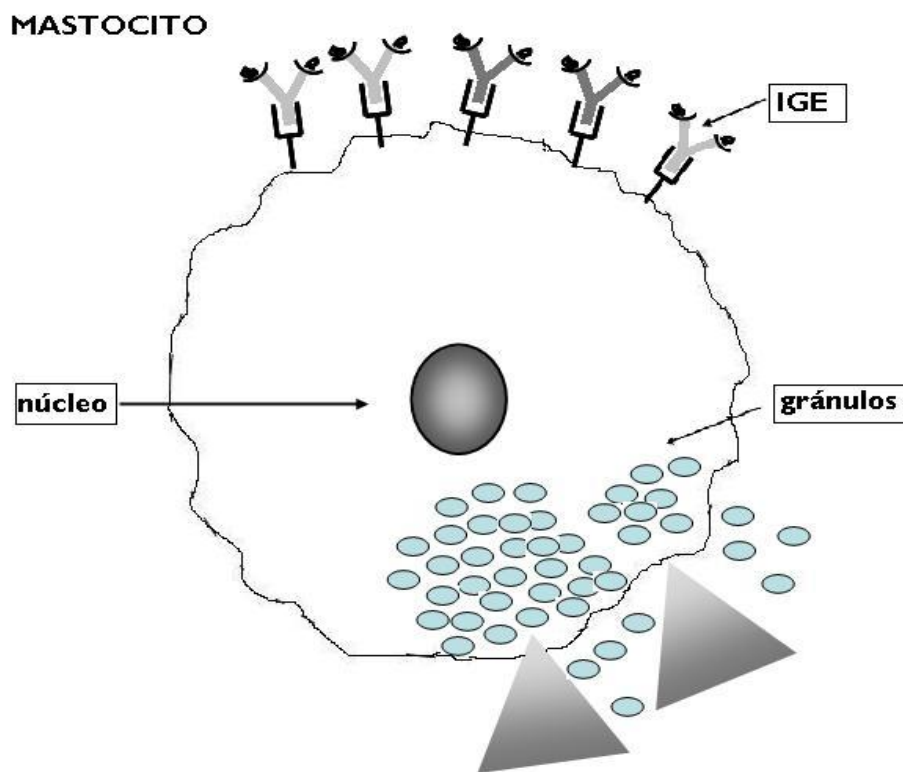


Figura 3. Esquema de un mastocito. Presentan abundantes gránulos en su citoplasma. En la vía dependiente de IgE (crosslinked IgE), el antígeno llega a los mastocitos sensibilizados y ocasiona su degranulación, liberando diversas moléculas vasoactivas.

Los MC también pueden activarse en respuesta a la distensión mecánica de los tejidos y así liberar las moléculas contenidas en sus gránulos citoplasmáticos (15). Otras moléculas sintetizadas por los MC son las proteasas, como la triptasa, que aumenta la permeabilidad vascular y degrada las proteínas de la matriz extracelular; también sintetizan citocinas que atraen linfocitos, neutrófilos y eosinófilos. Así mismo, sintetizan la sustancia de reacción lenta de la anafilaxia (SRL-A), el factor quimiotáctico para eosinófilos de la anafilaxia (FQE-A) y el factor activador de las plaquetas (FAP) (6,14).

En un estudio reciente en humanos, se señala a la histamina secretada por los MC como responsable de diversos padecimientos clínicos, que en su mayoría son de curso crónico y afectan el funcionamiento de la mucosa intestinal. Dentro de estas patologías se mencionan el síndrome del intestino irritable, alergia a los alimentos, algunos tipos de cáncer y en la patogénesis de las hemorroides (16). En un estudio se encontraron cambios en la densidad de MC en la mucosa intestinal con el consecuente aumento en la concentración de histamina a nivel tisular (16,17). Actualmente es de interés médico el estudio de la distribución microanatómica de células con función inmunológica presentes en la mucosa intestinal, como son los MC.

Los sacos anales de los perros frecuentemente cursan con procesos inflamatorios crónicos (saculitis anal), e incluso existen reportes de casos de adenocarcinoma de las glándulas apocrinas de los sacos anales y carcinoma de células escamosas (9,10). En los casos de saculitis anal, al hacer el examen microscópico de frotis de la secreción revela un número importante de leucocitos polimorfonucleares y abundantes bacterias (18).

Hasta el momento, no se ha estudiado la densidad en la población de MC de la mucosa de los sacos anales en perros de distintas edades.

Hipótesis

La población de mastocitos presentes en los sacos anales de perros adultos maduros, es más numerosa que la existente en perros adultos jóvenes.

Objetivos

1. Efectuar el conteo de mastocitos en cortes histológicos de sacos anales de perros adultos jóvenes y adultos maduros, teñidos con azul de Toluidina.
2. Analizar estadísticamente los resultados obtenidos, con el fin de determinar si hay diferencia significativa entre los dos grupos estudiados.

Material y Métodos

Para el presente estudio se utilizaron perros eutanasiados en el Centro antirrábico y de Control Canino perteneciente a la Delegación política de Tláhuac, Distrito Federal. Una vez muertos los perros se examinaron los sacos anales y se seleccionaron aquellos que no presentaban evidencia de reacción inflamatoria, como la presencia de algún tipo de exudado y/o aumento de tamaño. Asimismo, se revisó que no existieran en el ano de los perros huevos o larvas parasitarias. A partir de los perros que reunieron estos requisitos se obtuvieron muestras de tejido de sacos anales.

De cada perro se obtuvo una muestra de tejido de 2 cm³ obteniendo un total de 24 muestras de sacos anales que se dividieron en dos grupos de acuerdo a su edad estimada; grupo 1 (n=12) formado por perros de uno a cinco años de edad a los que se consideró como adultos jóvenes; grupo 2 (n=12) formado por perros de más de cinco años de edad, a los que se les consideró como adultos maduros. La estimación de la edad de los perros se realizó con base en las características del desgaste de las piezas dentarias y aspectos como su coloración y presencia de sarro (19). Los fragmentos de tejido se fijaron inmediatamente en solución de formol al 10% amortiguado, durante 5 días. El estudio histológico se llevó a cabo en el laboratorio de Biología Tisular de la Reproducción “Rosa E. Lavielle” del Departamento de Morfología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, el cual cuenta con el equipo necesario para el procesamiento histológico.

Los tejidos fijados se procesaron mediante la técnica de inclusión en parafina y posteriormente se realizaron cortes de 6 µm de espesor con un micrótopo. Los cortes se tiñeron con Azul de Toluidina (AT). Para este fin los cortes de tejido se tiñen con AT durante cinco minutos, posteriormente se lavan en tampón acetato de sodio y ácido acético. A continuación los cortes se trataron con molibdato de amonio al 4% durante 10 minutos y se efectuaron tres lavados en agua destilada para finalmente deshidratar, aclarar y cubrir la preparación con resina. El

colorante azul de toluidina tiñe de azul los tejidos, excepto los que son ricos en polianiones, como los gránulos de los MC que se tiñen de color rojo a púrpura, reacción química que se conoce como metacromasia.

El conteo de los MC se efectuó con un ocular microscópico 10X provisto de una retícula micrométrica y el objetivo 40X de un microscopio óptico, con este fin se observaron 12 campos microscópicos, tomados al azar, identificando a los MC localizados alrededor de las glándulas apócrinas, en el tejido intersticial existente entre ellas (16). Como ya se mencionó, los MC se caracterizan por presentar gránulos metacromáticos en su citoplasma. Los resultados obtenidos se analizaron mediante la prueba estadística no paramétrica de U Mann-Withney, para comparar los dos grupos estudiados ($P < 0.0001$).

Resultados

En el tejido conjuntivo de las paredes de los sacos anales se observaron numerosas glándulas tubulares apócrinas. Los MC teñidos con azul de Toluidina se localizaron principalmente alrededor de las glándulas apócrinas, en el tejido conjuntivo estromal existente entre ellas (Figura 4 y 5).

Es de llamar la atención que los MC presentaron diferencias en su tamaño y en su contenido de gránulos, aun en un mismo campo microscópico. De igual manera, el grado de reacción metacromática de

los MC al azul de Toluidina presentó diferencias debido a que en algunas células la reacción fue débil y en otras fue intensa.

El promedio de MC encontrado en los 12 campos microscópicos observados en los cortes histológicos del grupo de perros adultos jóvenes fue de 18.16 ± 7.58 y en el grupo de perros adultos maduros se encontró un promedio de 73.75 ± 16.29 células. Estos datos se analizaron estadísticamente para comparar ambos grupos mediante la prueba no paramétrica, de U Mann-Withney y se encontró que los grupos son significativamente diferentes ($P < 0.0001$). (Figura 6)

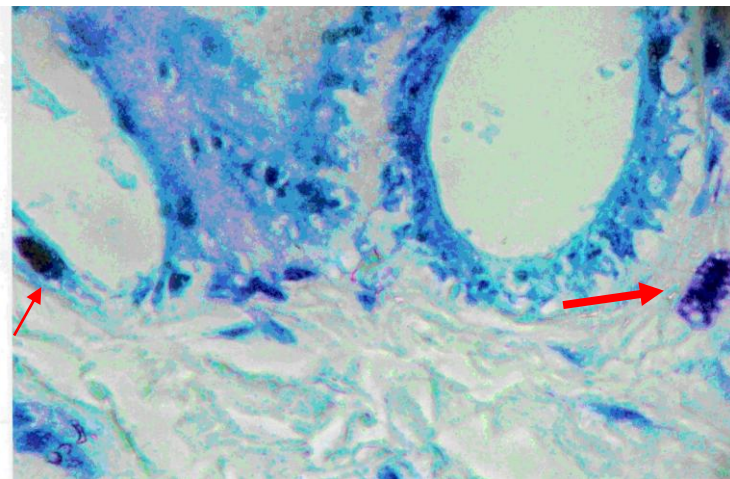


Figura 4. Fotomicrografía de mastocitos (flechas) adyacentes a glándulas tubulares apocrinas de sacos anales de perro adulto maduro. Tinción de Azul de Toluidina, 400X.

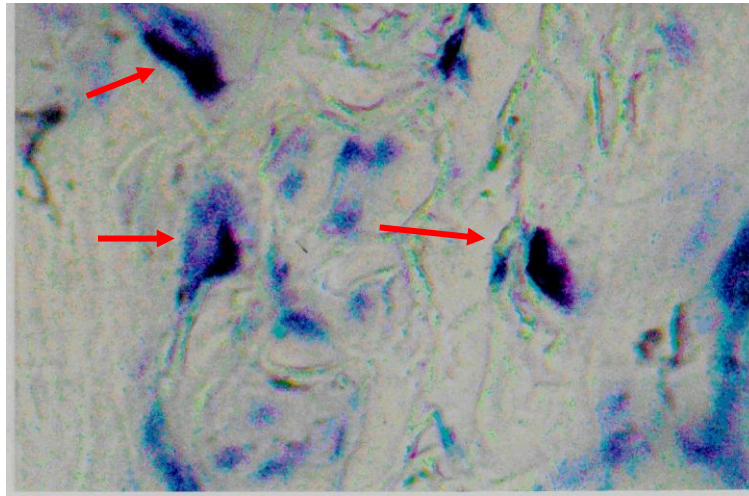


Figura 5. Fotomicrografía de mastocitos (flechas) en el tejido conjuntivo estromal de sacos anales de perro adulto maduro. Tinción de Azul de Toluidina, 400X.

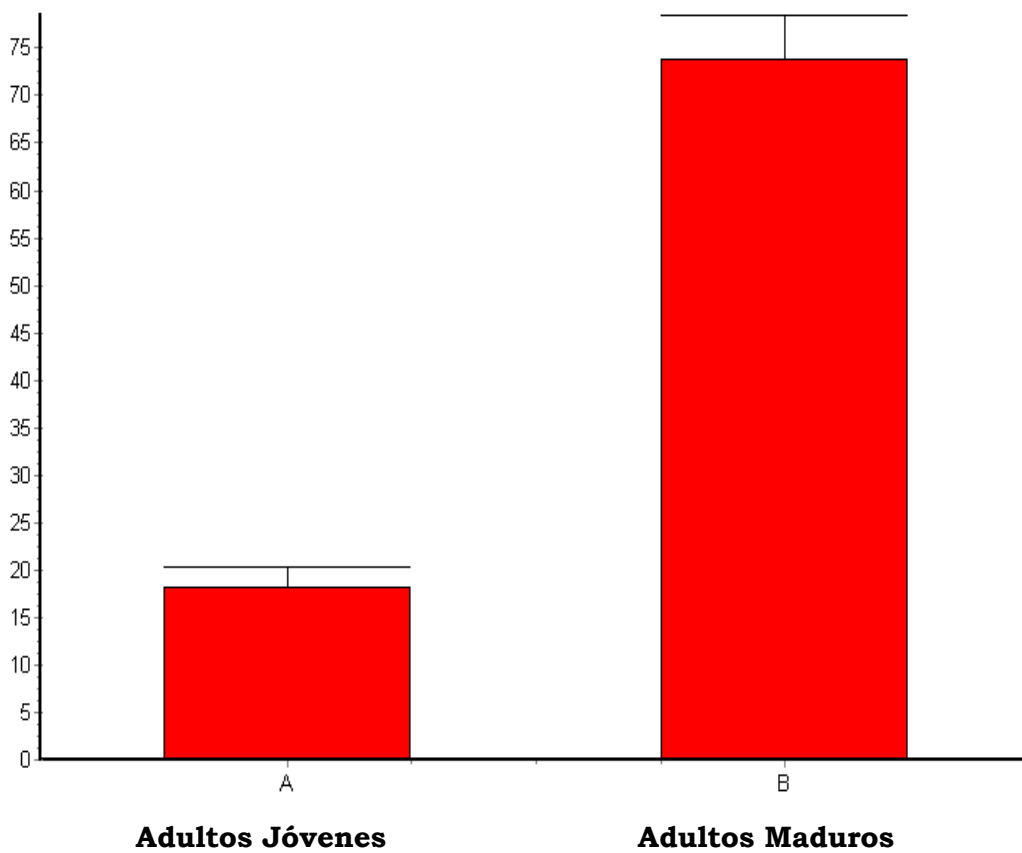


Figura 6. Promedio de mastocitos (\pm EE) en sacos anales de perros adultos jóvenes (n=12) y adultos maduros (n=12), contados en 12 campos microscópicos con el objetivo 40X. (* P< 0.0001). (400X).

Discusión

Las diferencias de tipo morfológico e histoquímico observadas en los MC son indicativas de que las células se encontraban en diferentes estadios fisiológicos. En algunos casos estaban en “reposo”, probablemente por falta de un estímulo suficiente que indujera su degranulación; en otros casos, al haber ocurrido ya la liberación de sus gránulos, la cantidad existente de los mismos en su citoplasma fue menor.

Existe evidencia clínica y experimental que indica que la edad es un factor determinante en la susceptibilidad de los individuos a padecer reacciones inflamatorias. En este sentido, se ha observado que en los individuos de mayor edad aumenta la incidencia de cuadros clínicos que cursan con inflamación en distintos tejidos (20).

En la saculitis anal aguda la impactación de los sacos predispone a la oclusión parcial o total de los conductos de las glándulas anales. Se ha observado a nivel clínico que en perros de talla pequeña y obesos, ésta alteración va acompañada de disminución del tono muscular del ano, lo que ocasiona molestias al perro y en algunos casos pueden infectarse los sacos anales resultando en la formación de un absceso, lo

que ocasiona que el contenido de los sacos se torne de un olor sumamente desagradable (9).

En algunos casos los cuadros de diarrea crónica se asocian a la impactación de los sacos anales y generalmente van acompañados de aumento de secreción glandular de tipo viscosa, por lo que el tipo de dieta que reciben los perros es un factor importante en la prevención de este trastorno (9).

La impactación de los conductos de las glándulas anales se previene con la propia dieta, la hidratación y el ejercicio para mantener la tonicidad del esfínter anal. Es recomendable que la dieta de los perros tenga un aporte adecuado de fibra y de grasas no saturadas. La fibra es esencial para el movimiento normal y la fermentación del tracto gastrointestinal bajo (9).

Por otra parte, se ha encontrado que existe una relación funcional entre los MC de la mucosa intestinal y las fibras aferentes vagales, por lo que los MC también participan en el control fisiológico de la motilidad intestinal (21).

Se ha informado que los estados de estrés, alteran el funcionamiento de la mucosa intestinal a través de los nervios colinérgicos y la inducción de la degranulación de los MC, lo que aumenta la permeabilidad de los capilares de la mucosa intestinal (22).

En humanos, la histamina secretada por los MC es causa de diversos padecimientos clínicos que afectan el funcionamiento del intestino, dentro de estas patologías están las hemorroides, el síndrome del intestino irritable, alergia a los alimentos y el desarrollo de cáncer (16,17).

En la patogenia de las hemorroides, los gránulos de los MC liberan proteínas como la triptasa y la quimasa que participan en la degradación del tejido estromal; por otra parte, la heparina favorece la formación de nuevos vasos sanguíneos. Asimismo, las citocinas secretadas por los MC como el factor de necrosis tumoral alfa, el factor de crecimiento fibroblástico y la interleucina 4 favorecen la proliferación de fibroblastos (16).

Los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren que conforme aumenta la edad de los individuos la población de MC también aumenta. Esto puede influir en que los perros de mayor edad, tengan una mayor predisposición a padecer cuadros de saculitis anal.

Conclusiones

El presente estudio representa una evidencia histológica respecto a la existencia de una población mayor de MC en los sacos anales de perros adultos maduros. Esta particularidad histológica puede hacer que el tejido de los sacos anales de perros de mayor edad sea más reactivo a una reacción inflamatoria, inducida por factores etiológicos de diversa naturaleza, como son las variaciones en el tipo de dieta, obesidad y diarreas crónicas.

Referencias

1. Castrillón RL. La función Inmunológica de la piel. *Dermatología Rev. Mex* 2008;52:211-24.
2. Mykytomycz R. Skin glands as organs of communication in mammals. *Journal of investigative Dermatology* 1974;62:124-131.
3. Woodley SK, Baum MJ. Effects of sex hormones and gender on attraction threshold for volatile anal scent gland odors in Ferrets. *Hormones and Behaviour* 2003;44:110-118.
4. Artega CM, Martínez GM, Guevara GR, Hudson R. Comunicación química en mamíferos domésticos. *Vet. Méx* 2007;38:105-123.
5. Dyce KM. *Anatomía Veterinaria*. 3ª ed. México: Manual Moderno, 2007.
6. Banks WJ. *Histología Veterinaria Aplicada*. México: Manual Moderno, 1990.
7. Lake AM. Gross and cytological characteristics of normal canine anal-sac secretions. *J Vet Med Series A* 2004;51:249-53.
8. Slatter D. *Manual de Cirugía en Pequeñas especies*. México: McGraw-Hill Interamericana, 1997.
9. Bonagura. JD. *Terapéutica Veterinaria de pequeños animales*, XIII edición. Madrid: Interamericana-Mc Graw Hill, 2001.
10. Esplin DG, Wilson SR, Hullinger GA. Squamous cell carcinoma of the anal sac in five dogs. *Vet Pathol* 2003;40:332-334.

11. Pappalardo E. Macroscopic cytological and bacteriological evaluation of anal sac content in normal dogs and in dog with selected dermatological diseases. *Vet Dermatol* 2002;13:315-22.
12. Rao KN, Brown MA. Mast cells. Multifaceted immune cells with diverse roles in health and disease. *Ann. N.Y. Acad. Sci* 2008;1143:83-104.
13. Ross HM. *Histología texto y atlas color*. 2ª edición. México: Media Panamerican, 1992.
14. Tizard IR. *Inmunología Veterinaria*. 6ª edición. México DF: McGraw-Hill Interamericana. 2002.
15. Vermillon, DL., Huizinga JD., Riddell RH., Collins SM. Altered small intestinal smooth muscle function in Crohn's disease. *Gastroenterology* 1993;104:1692-1699.
16. Taweevisit M, Wisadeopas N, Phumsuk U, Thorner PS. Increased mast cell density in haemorrhoid venous blood vessels suggests a role in pathogenesis. *Singapore Med J*. 2008;49:977-979.
17. Wood JD. Histamine, mast cells, and the enteric nervous system in the irritable bowel syndrome, enteritis, and food allergies. *Gut*. 2006;55:445-447.
18. Van Duijkeren E. Disease conditions of canine anal sacs. *Journal of Small Animal Practice* 1995;36:12-16.
19. Payro DJ. *El perro y su mundo. Tratado de Zootecnia canina*. México: Loera Chávez Hermanos, 1981.

20. Harada M, Nagata M, Takeuchi M, Ohara T, Makino S, Watanabe A. Age-dependent difference in susceptibility to IgE antibody- and IgG1 antibody-mediated passive anaphylactic shock in the mouse. *Immunol Invest.* 1991;20:515-23.
21. Williams RM., Bienenstock J., Stead RH. Mast cells: the neuro immune connection. *Chem Immunol.* 1995;61:208-235.
22. Wilson, LM, Baldwin, AL. Environmental stress causes mast cell degranulation, endothelial and epithelial changes, and edema in the rat intestinal mucosa. *Microcirculation* 1999;6:189-198.