

CONTEO DE MASTOCITOS EN GLANDULA MAMARIA CANINA CON DIFERENTES TIPOS DE NEOPLASIAS

*Rosa Emilia Lavielle **
*Nuria de Buen de A. ***
*Eugenia Candanosa ***
*Mario Pérez-Martínez **
*José J. Martínez Maya ****

RESUMEN

El propósito de este estudio fue conocer el número y patrón de distribución de mastocitos (MC) presentes en glándula mamaria de perras (GMP) con diferentes tipos de neoplasias benignas y malignas. Para efectuar los análisis cuantitativo y de distribución se tomaron fragmentos de 2 cm³ de GMP de diferente raza y edad, con algún tipo de neoplasia benigna o maligna y por otro lado GMP sin alteraciones neoplásicas. Las muestras se fijaron durante 24 horas en solución amortiguada de formalina al 10%, se incluyeron en parafina y se hicieron cortes de seis micrómetros de grosor, los que se tiñeron con azul de toluidina y se contaron células en 16 campos al azar para conocer su población por mm². No se encontró diferencia estadística significativa ($p = 0.1172$) entre tumores benignos y malignos analizados. Sin embargo, la hubo ($p < 0.01$) entre las GMP con algún tipo de neoplasia benigna o maligna en relación con las glándulas mamarias normales, siendo mayor el número de MC en las glándulas normales que en las neoplásicas, lo que sugiere la participación de estas células en la modulación del funcionamiento celular normal del estroma glandular.

INTRODUCCIÓN

El perro es, entre los animales domésticos, la especie que con mayor frecuencia desarrolla tumores mamarios.³ Existe evidencia experimental de que la cantidad de mastocitos (MC) se incre-

menta en los tejidos que cursan con un proceso neoplásico benigno o maligno.⁹

Este fenómeno se ha observado en neoplasias originadas de manera espontánea y en las inducidas por productos químicos.⁴

Los 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. Dichas células responden a estímulos físicos, químicos e inmunitarios, secretando un complejo de sustancias biológicamente activas, que participan en una amplia gama de procesos fisiológicos y patológicos.^{5,6}

*Departamento de Morfología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). México, D.F.

**Departamento de Patología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.

***Departamento de Medicina Preventiva. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.

Los principales mediadores químicos de los mastocitos conocidos hasta el momento son: mediadores preformados (histamina [HA], 5-hidroxitriptamina, factores quimiotácticos para neutrófilos y eosinófilos, activadores de cininas, complemento y sistemas de coagulación) y asociados a los gránulos (heparina y condroitin sulfatos); enzimas proteolíticas (triptasa, proteasas, factor inflamatorio de anafilaxia) y mediadores generadores de activación (prostaglandinas, ácido hidroxílico eicosatetraenoico [HETES], ácido hidroperoxieicosatetraenoico [HPETES], leucotrienos y factor activador de plaquetas).^{1,7}

En estudios realizados *in vivo* e *in vitro*, se ha observado que los MC tienen capacidad para interactuar con diversos tipos celulares, incluyendo fibroblastos, células endoteliales vasculares 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.^{2,5,6,13,15,16}

Dentro de la lista de mediadores químicos que participan en estos procesos, se ha sugerido que la HA tiene efecto mitogénico sobre las células endoteliales microvasculares, por lo que induce la formación de nuevos vasos sanguíneos, este fenómeno es característico en el crecimiento neoplásico de los tejidos.^{9,12}

Durante la interacción de los MC con otras células, la 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 (H1 y H2), que modulan una amplia gama de respuestas.⁶

A pesar de que en la práctica veterinaria el diagnóstico de procesos neoplásicos en la glándula mamaria de perra es frecuente¹⁰ y dadas las evidencias existentes respecto a que las sustancias secretadas por MC hacia el espacio extracelular pueden mediar la comunicación por medio de la unión a receptores específicos localizados en la superficie de las células vecinas, no existen estudios comparativos que señalen el número y patrón de distribución de estas células en la glándula mamaria afectada por diferentes tipos de neoplasias y en glándula mamaria sin alteraciones, parámetros que se supondrían mo-

dificados durante la presentación de dichas alteraciones.

Los objetivos de este estudio fueron: 1. Conocer el número y patrón de distribución de MC en glándula mamaria de perra, afectada por neoplasias benignas y malignas y en glándula mamaria sin alteraciones patológicas. 2. Determinar la posible existencia de diferencias entre MC cuantificados en glándula mamaria con neoplasias de tipo benigno y maligno y en glándula mamaria sin alteraciones.

MATERIAL Y MÉTODO

Se tomaron fragmentos de 2 cm³ de glándulas mamarias de perra (GMP) de diferente raza y edad, afectadas por neoplasias, 27 de tipo benigno y 44 maligno; asimismo, se tomaron fragmentos de 22 GMP sin alteraciones.

El material biológico se obtuvo a partir de las muestras enviadas al Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM para diagnóstico histopatológico.

Las muestras se fijaron durante 24 horas en solución amortiguada de formaldehído al 10%, se procesaron conforme al método de inclusión en parafina y se hicieron cortes de seis micrómetros de grosor los que se tiñeron con hematoxilina/eosina para verificar el tipo de neoplasia y con azul de toluidina para evidenciar los MC. Al contar los MC se consideró el tejido conjuntivo de las zonas tumorales y adyacentes a ellas.

En las muestras sin alteraciones neoplásicas se consideró a los MC localizados en el tejido conjuntivo existente entre alvéolos y trabéculas. Se contaron células en 16 campos al azar para conocer su población por mm², se utilizó un ocular con retícula micrométrica y el objetivo 40 X.

Con el fin de determinar diferencias cuantitativas de dichas células entre tumores benignos y malignos, así como entre éstos y glándulas mamarias normales, se efectuó el análisis de Kruskal-Wallis,¹⁴ sin tomar en cuenta las variables: edad, raza y estado funcional de la glándula.

RESULTADOS

En el examen microscópico de las GMP norma-

les se observaron abundantes MC distribuidos tanto en el estroma fino que rodea a los alvéolos como en las trabéculas interlobulillares. En las glándulas tumorales la cantidad de MC observadas en zonas neoplásicas es marcadamente menor que la observada en el tejido conjuntivo que circunda estas áreas. En cuanto a la forma de los MC, hubo heterogeneidad, ya que varió desde las típicas ovoides muy granuladas hasta las de aspecto fusiforme con escasas granulaciones. Los resultados de la cuantificación de estas células en diferentes tipos de muestras analizadas, se resumen en el cuadro 1. La media obtenida por mm² se presenta en la figura 1.

No se encontró diferencia estadística significativa ($p = 0.1172$) entre tumores benignos y malignos analizados; sin embargo las hubo ($p < 0.01$) entre las GMP con algún tipo de neoplasia benigna o maligna en relación con las glándulas mamarias normales, siendo mayor el número de MC en las glándulas normales que en las neoplásicas.

DISCUSIÓN

Los informes de autores que han estudiado la distribución de MC en varios tipos de neoplasias en humanos y en animales de laboratorio, denotan diferencias entre la cantidad existente en el estroma de las neoplasias y los tejidos adyacentes a ellas,^{4,8}. En el presente trabajo también se encontró un patrón de distribución diferente en los tumores estudiados, ya que en el tejido conjuntivo adyacente al tumor, el número de MC siempre fue mayor que en el estroma de las neoplasias benignas y malignas.

Respecto a la heterogeneidad en la forma de los MC se puede pensar que este fenómeno se debe a variaciones existentes en el medio extracelular ya que para el muestreo no se consideró la edad de los animales ni el estado fisiológico de las glándulas mamarias.

En los resultados obtenidos de la cuantificación celular, las muestras de GMP normales presentaron mayor cantidad de MC en comparación con los procesos neoplásicos benignos y malignos. Estos resultados coinciden con lo comunicado por Lascano en varios tipos de neoplasias en glándula mamaria y otros órganos en humanos.⁸

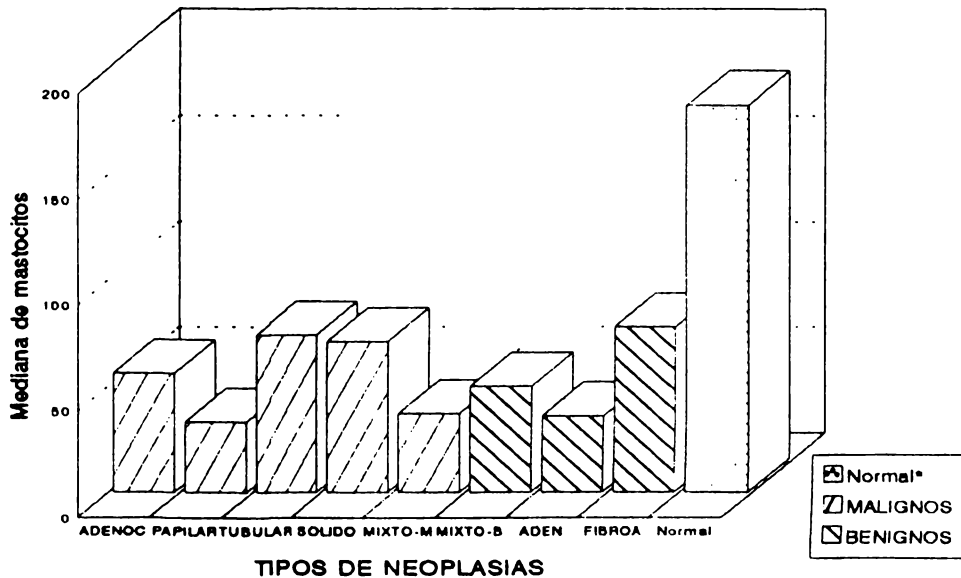
CUADRO 1

Número de mastocitos por mm² en glándula mamaria de perra (GMP) con diferentes tipos de neoplasias y sin alteraciones

TIPO DE MUESTRA	MEDIA
Neoplasias malignas (n=44)	
Tumor mixto maligno	41.9
Papilar	56.2
Adenocarcinoma	61.5
Sólido	79.9
Tubular	89.7
Neoplasias benignas (n=27)	
Adenoma	35.0
Tumor mixto benigno	54.0
Fibroadenoma	77.0
GMP sin alteraciones (n=22)	244.6

Los MC contienen en sus gránulos sustancias biológicamente activas que participan en la interacción entre éstos y otros elementos celulares, tal es el caso de los fibroblastos que al captar mediadores químicos liberados por la degranulación de los MC, activan su capacidad secretora de colagenasa y proteinasa neutra.¹⁵ Por otro lado, los MC sintetizan el factor de necrosis tumoral que estimula el reclutamiento de neutrófilos en procesos inflamatorios por complejos inmunitarios, ello constituye otra evidencia que sugiere la importancia de estas células en la modulación del funcionamiento celular.¹⁶

El menor número de MC que resultó de la cuenta en las muestras de GMP neoplásicas, pudo deberse a que muchas de estas células ya habían degranulado, lo que no permitió observar la metacromasia en los gránulos. La degranulación puede estar relacionada con el proceso de neovascularización que se observa en diversos procesos patológicos, en virtud de que algunos investigadores consideran que dicho fenómeno es mediado por factores que estimulan la migración y el potencial angiogénico de las células endoteliales; dentro de estos factores se han considerado la heparina y la histamina contenida en los gránulos de MC.^{9,11}



* Diferencia significativa ($P < 0.01$) entre normales y neoplásicos

Fig. 1. Mediana de mastocitos por mm^2 en glándula mamaria de perra con diferentes tipos de neoplasias.

SUMMARY

The objective of this study was to determine the number and the distribution pattern of the mast cells (MC) found in the mammary gland of bitches (BMG) affected with different types of benign and malignant neoplasias. The quantitative analysis and the distribution were done using 2 cm^3 BMG fragments from subjects of varying age and breed which had some kind of malignant or benign tumor and did not present any type of neoplastic disorder. The samples were fixed during 24 hours in a solution of 10% buffered formaline, and included in parafine to be cut into six micrometre with portions. These sections were stained with toluidine blue and cells were counted in 16 fields, selected at random, to estimate the mm^2 population. No significant statistical difference was found ($p = 0.1172$) between the benign and malignant tumors. On the other hand, there was a significant difference ($p < 0.01$) between the BMG with some type of benign or malignant neoplasia and the normal mammary glands, regarding the number of MC. This number was larger in the normal glands. This suggests the importance of the MC in the regulation of the normal cell function.

Agradecimiento

Al señor Emilio Francisco López López, técnico del Laboratorio de Histología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, por el apoyo brindado en el procesamiento histológico.

BIBLIOGRAFIA

1. Atkins, F.M. and Metcalfe, D.: "Degradation of the heparin matrix of mast cell granules by cultured fibroblasts". *J. Immunol.*, **131**: 1420-1425 (1983).
2. Barrett, K.E.: "Effect of histamine and other mast cell mediators on T84 epithelial cells". *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **664**: 222-231 (1992).
3. Becker, F.F.: *Cancer*, vol. 4. Plenum Press. New York, U.S.A., 1975.
4. Combs, J.W. and Purnell, D.M.: "Functional characteristics of mast cell associated with rat mammary tumors induced by 7, 12 Dimethylbenzene anthracene". *J. Nat. Cancer Res.*, **50**: 1003-1011 (1973).
5. Galli, S.J.: "New concepts about the mast cell". *N. Engl. J. Med.*, **328**: 257-265 (1993).
6. Greenberg, G. and Burnstock, G.: "A novel cell to cell interaction between mast cells and other

- cell types". *Exp. Cell. Res.*, **147**: 1-13 (1983).
7. Heyworth, M.F. and Jones, A.L.: *Immunology of the gastrointestinal tract and liver*. Raven Press. New York, U.S.A., 1988.
 8. Lascano, E.F.: "Mast cells in human tumors". *Cancer*. **11**: 1110-1114 (1958).
 9. Marks, R.M.; Roche, W.R.; Czerniecki, M.; Penny, R. and Nelson, D.S.: "Mast cell granules cause proliferation of human microvascular endothelial cells". *Lab. Invest.* **55**: 289-294 (1986).
 10. Moulton, J.E.: *Tumors in Domestic Animals*. University of California Press. Third Edition. U.S.A., 1990.
 11. Roche, W.R.: "Mast cells and tumors: the specific enhancement of tumor proliferation *in vitro*". *Am. J. Pathol.* **119**: 57-64 (1985).
 12. Roche, W.R.: "Mast cells and tumour angiogenesis: The tumour-mediated release of an endothelial growth factor from mast cells". *Int. J. Cancer*. **36**: 721-728 (1985).
 13. Sholley, M.M.; Ferguson, G.P.; Seibel, H.R.; Montour, J.L. and Wilson, J.D.: "Mechanisms of neovascularization". *Lab. Invest.* **51**: 624-634 (1984).
 14. Siegel, S.: *Estadística no paramétrica*. Edit. Trillas. México, D.F., 1980.
 15. Werb, Z. and Reynolds, J.J.: "Stimulation by endocytosis of the secretion of collagenase and neutral proteinase from rabbit synovial fibroblasts". *J. Exp. Med.*, **140**: 1482-1497 (1974).
 16. Zhang, Y.; Ramos, B.F. and Jakschick, B.: "Neutrophil recruitment by tumor necrosis factor from mast cells in immune complex peritonitis". *Science*. **258**: 1957-1959 (1992).