

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS MASTOCITOS
EN GLANDULAS SALIVALES Y OVARIOS
DURANTE EL CICLO ESTRUAL**

Ferraris, M. (*)

Rins de David, M. L. (**)

RESUMEN

La población mastocitaria de glándulas salivales se ve influenciada por la acción exógena de las hormonas sexuales, estrógeno y testosterona. (Ferraris y colab. 1986).

El objetivo del presente trabajo fue estudiar los mastocitos en forma simultánea en glándulas salivales y ovarios durante el ciclo estrual, para observar las respuestas a la acción de las hormonas sexuales y establecer comparaciones entre ambos órganos.

Se usaron 24 ratas Wistar hembras adultas jóvenes. Se determinaron las etapas del ciclo. Se disecaron las glándulas submaxilar (GSM) sublingual (GSL) y ovario, fijándose en formol tamponado y procesando según técnica de rutina. Coloraciones usadas: ATO pH 3, 8; AB pH 2, 5, PAS. HISTOMETRIA: Se realizó en un área de 15,6 mm² a 450 A, con un total de 10 lecturas de cada tejido examinado, áreas periductales y parénquima salival y en ovario: médula, hilio y oviducto.

Durante el ciclo estrual se observaron en ambos órganos: 1°-Variaciones en el comportamiento citoquímico y tamaño celular de los mastocitos especialmente en las etapas del proestro y estro. 2°-La GSM en el estro presenta un incremento de mastocitos que es estadísticamente significativo con respecto a las otras etapas. Este hecho se presenta similar en ovario.

"Se concluye que durante el ciclo estrual los mastocitos sufren modificaciones citoquímicas y numéricas".

**COMPARATIVE STUDY OF MAST CELLS IN SALIVARY
GLANDS AND OVARIES DURING THE OESTRUS CYCLE**

SUMMARY

The mast cell population of salivary glands is considered to be influenced by the exogenous action of sexual hormones, estrogen and testosterone. (Ferraris y colab. 1986).

The aim of this work was to study the mast cells simultaneously in both sali

(*) Profesora Titular, Cátedra de Histología "B".

(**) Profesora Adjunta, Cátedra de Fisiología.

vary gland and ovaries during the oestrus cycle in order to observe the responses to the action of sexual hormones as well as to establish comparisons between both organs.

24 female adult Wistar rats were used. The stages of the cycle were determined. The submaxillary glands, sublingual glands and ovaries were dissected, they were fixed in formol and processed according to routinary technique.

The used stain were: ATO pH 3, 8; AB pH 2, 5, PAS. HISTOMETRY: it was made in an area from 15,6 mm² to 450 with a total of ten lectures for each examined tissue; periductal areas and salivary parenchyma and in ovary: marrow hī lious and oviduct.

During the oestrus cycle it was observed in both organs: 1°-Variations in the cytochemical behaviour and cellular size of mast cells mainly in the proestrus and oestrus stages. 2°-In the oestrus the SMG shows an increase of mast cells which is statistically relevant with respect to the other stages. This fact is similar in ovary.

"The conclusion is that mast cells undergo cytochemical and numerical modifications during the oestrus cycle".

La bibliografía sugiere que los mastocitos, células del tejido conjuntivo, juegan un papel importante en la fisiología del organismo y en la patogenia de ciertas enfermedades, aunque su función exacta se desconoce aún. Como proveedor de sustancias fisiológicamente activas (heparina, histamina, serotonina, etc.), el mastocito debe ser considerado como una glándula endócrina unicelular (7). La población mastocitaria en diferentes condiciones experimentales muestran cambios de número, tamaño y localización en distintos tejidos (4-5-8-18). En útero y ovario estas variaciones se han relacionado con el ciclo estrual (10-2).

Es conocida la influencia que ejercen las hormonas sexuales sobre el parénquima de las glándulas salivales (16). En un trabajo anterior inferimos que los mastocitos de las glándulas salivales sufren cambios morfológicos, citoquímicos y poblacionales por la administración de hormonas esteroideas (estrógeno y testosterona) (6). Por otra parte también observamos variaciones histoquímicas en los conductos de las glándulas salivales y las relaciones con el ciclo (14). El objetivo del presente trabajo fué el de estudiar los mastocitos de las glándulas salivales (sublingual y submaxilar) y ovarios durante el ciclo estrual, y establecer posibles comparaciones entre ambos órganos.

MATERIAL Y METODOS

Se usaron 24 ratas Wistar de 60 días de edad. Con extendidos vaginales se controló el ciclo normal durante 20 días siguiendo la clasificación de Long y Evans (estro, metaestro,

diestro y proestro). Se disecaron las glándulas sublingual, submaxilar y ovario, fijándose en formol tamponado a pH 7. Se procesó según técnica de rutina con inclusión en parafina. Las coloraciones usadas para la identificación de mastocitos fueron: Azul de Toluidina (ATO) a pH 3,8 y Alcian Blué (AB) pH 2,5 en combinación con el PAS (ácido peryódico-schiff). Los estudios histométricos se realizaron en un área de 15,6 mm² a 450 A con un total de 10 lecturas de cada tejido examinado, en las áreas siguientes: parénquima salival y áreas periductales (ductus intra lobulillares únicamente). En ovario, a nivel de médula hilio y oviducto. Para las lecturas cuantitativas se usaron únicamente los cortes coloreados con azul de toluidina por su fácil identificación, debido a que los gránulos citoplasmáticos se tiñen de rojo. Esta capacidad de modificar el color del colorante utilizado se denomina metacromasia y es resultado de la presencia intracitoplasmática de radicales ácidos sulfatados. (1)

RESULTADOS

HISTOMETRIA O RECUENTO DE MASTOCITOS: Las variaciones numéricas de los mastocitos durante el ciclo estrual, se grafican en la tabla N°I. En glándula submaxilar podemos apreciar que el promedio del N° de mastocitos en parénquima y área periductal es mayor en el estro que en las otras etapas del ciclo. Destacamos que durante el diestro, en el tejido periductal, se observó un aumento del número de mastocitos, que si bien no sobrepasa los niveles del estro, es considerable. Estos hallazgos se presentan a manera de réplica en el ovario. Sólomente en diestro y en el oviducto, el nivel es mayor que en las otras etapas y localizaciones.

En la tabla N°II presentamos los datos numéricos del gráfico anterior obtenidos de un total de 10 lecturas, por áreas de tejido examinado, por órgano de cada animal y en cada una de las etapas del ciclo.

A nivel de glándula submaxilar el aumento del N° de mastocitos es estadísticamente significativo en el estro, con respecto a las otras etapas.

ESTUDIO CITOQUIMICO

El comportamiento citoquímico, la localización y el tamaño celular de los mastocitos también son objeto de variaciones

durante el ciclo estrual, tanto de la glándula submaxilar como en ovario especialmente en las etapas de estro y proestro.

TABLA I

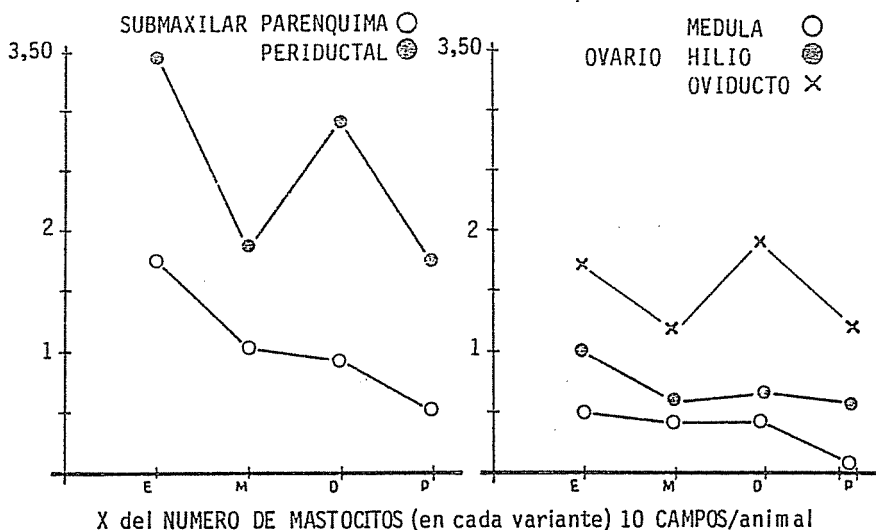


TABLA II

	G. SUBMAXILAR		OVARIO		
	Parenquima	Periductal	Medular	Hilio	Oviducto
Estro	1,71 ± 0,14	3,48 ± 0,18	0,5 ± 0,08	1,03 ± 0,11	1,71 ± 0,12
Metaestro	1,01 ± 0,09	1,81 ± 0,16	0,43 ± 0,08	0,65 ± 0,10	1,23 ± 0,14
Diestro	0,96 ± 0,08	2,98 ± 0,18	0,4 ± 0,07	0,71 ± 0,09	1,91 ± 0,01
Proestro	0,5 ± 0,08	1,73 ± 0,12	0,03 ± 0,02	0,6 ± 0,09	1,46 ± 0,13

\bar{X} del NUMERO DE MASTOCITOS (en cada variante) 10 CAMPOS/animal

Glándula submaxilar: Las variaciones de tamaño más importantes se observan en el estro donde los mastocitos tienen de 14 a 16 μ m de diámetro y durante el metaestro oscilan entre 6 a 8 μ m aproximadamente.

Localización: En el estro, además de la localización clásica de los mastocitos alrededor de los conductos y vasos sanguíneos,

se identificaron en el parénquima interacinar, adquiriendo una típica disposición en cadena (encolumnados) Fig. 1 y 2. A medida que se avanza en las etapas del ciclo, la distribución de los mastocitos en el parénquima disminuye y son escasos o raros de encontrar durante el proestro.

Citoquímica: Los mastocitos en las distintas etapas del ciclo a nivel glandular son identificables con ambas técnicas: metacromáticos con ATO y alcianófilos con la técnica del AB-PAS. En el proestro observamos también numerosos mastocitos de citoplasma débilmente PAS positivo con escasos gránulos alcianófilos bien evidentes de localización periductal.

En ovario: Las variaciones de tamaño fueron más notorias entre el estro y metaestro. Los mastocitos presentan en estro un tamaño de 6 a 8 um de diámetro en médula e hilio y en oviducto de 8 a 10 um. En metaestro tuvieron un término medio de 4,5 um en medular, en hilio y oviducto con un rango de 6 a 9 um.

Localización: Los mastocitos se identifican en el tejido conectivo de la médula e hilio del ovario, preferentemente en la proximidad de los vasos sanguíneos. Fig. 3. No los observamos alrededor de los folículos ováricos y cuerpos lúteos de la corteza en las distintas etapas del ciclo, como lo informan Jones y col. (1980) (10). Son abundantes en el tejido conjuntivo interfascicular del oviducto.

Citoquímica: El comportamiento citoquímico de los mastocitos a nivel ovárico ofreció variaciones importantes en relación al estro y proestro. En el estro se evidenciaron en médula con ATO mastocitos metacromáticos y escasos ortocromáticos (teñidos de azul). Con el AB-PAS se observan de citoplasma débilmente PAS positivo con granulaciones alcianófilas. En hilio y oviducto se presentan metacromáticos y alcianófilos, de citoplasma homogéneo con el AB-PAS. Fig. 4. En proestro: en médula no son identificables metacromáticamente con ATO, pero si observamos mastocitos con gránulos PAS positivos con el AB-PAS, mientras que el hilio y oviducto ofrecen iguales características que en la etapa del estro, es decir, demostrables con ambas técnicas. Destacamos que al comparar glándula submaxilar y ovario, el tamaño de los mastocitos es semejante a las etapas de estro y metaestro, mientras que el comportamiento citoquímico fué similar en ambos órganos en las etapas de estro y proestro.

DISCUSION

Los resultados obtenidos del análisis histométrico muestran que la población mastocitaria, especialmente en la glándula submaxilar y ovario ofrecen variaciones numéricas durante el ciclo estrual.

En glándulas submaxilar y ovario durante el estro, se observan valores celulares altos (E) y son menores en proestro (P). En este último órgano, si bien los cambios se reflejan particularmente en médula, las otras áreas también ofrecen variaciones aunque no tan manifiestas. Estos hallazgos coinciden en parte con los datos de Jones y col., donde el índice de los mastocitos correspondientes a la zona medular del ovario de la rata, son significativamente más altos durante el estro y extremadamente bajos en proestro. A nivel de hilio y oviducto, la población es más estable durante el ciclo.

Los estudios de Harvey (8) y Brandon (20) sobre mastocitos en útero de rata, indican una marcada disminución de estas células en el proestro, etapa del ciclo sexual de máxima dominancia estrogénica y de LH hipofisiaria (16-19). Resultados similares se obtienen en mastocitos de úteros humanos y en la glándula harderiana del hamster (13). En concordancia con estos resultados, Westin (18) demuestra que el tratamiento con estrógenos reduce el número de mastocitos del útero en ratas ovariectomizadas. Por otra parte nosotros corroboramos (6) que la castración aumenta la población mastocitaria de la glándula submaxilar de rata, pero al efectuar terapia sustitutiva de estrógenos los revierte a valores normales.

Szejo y Gitín centralizan este efecto a nivel hipofisiario. Adjudicando esta disminución de los mastocitos en ovario a la LH que provoca una deplección de histamina, lo que implica una degranulación celular. Por influencia hormonal también se producen cambios en el comportamiento citoquímico, tamaño y localización de los mastocitos. Al emplear la técnica del ATO no fue posible evidenciarlos metacromáticamente en el área medular del ovario durante el proestro. Datos semejantes han sido mencionados por Jones y col. (10) quienes atribuyen estos resultados a que están totalmente degranulados.

Sin embargo, identificamos en ésta zona escasos mastocitos ortocromáticos (A.T.O.) y de citoplasma levemente PAS^F que muestran algunos gránulos alcianófilos al combinarlo con AB pH 2,5.

Esta característica se debería, como lo demuestra Combs(3), a los distintos grados de diferenciación o madurez de sus gránulos, probablemente relacionados con el grado de sulfatación intracitoplasmática del polisacárido, dado que son metacromáticos cuando alcanzan cierto nivel de sulfatación, mientras que los mastocitos jóvenes son ortocromáticos o alcianófilos(7).

La presencia de abundantes mastocitos en las áreas interacinarias con disposición encolumnada en la glándula submaxilar de rata en estro, concuerda con los resultados previos obtenidos por nosotros (6) en ratas castradas e inyectadas con estrógenos.

Igual influencia estrogénica podemos mencionar en relación al tamaño celular que es mayor en el estro para alcanzar solamente de 6 a 8 um de diámetro en metaestro; Modat y colab. (11) demuestran que los mastocitos peritoneales de la rata son muy numerosos y de tamaño más reducido en metaestro que en estro, donde existe una degranulación parcial.

En base a estos hallazgos podemos sugerir que la población mastocitaria experimenta variaciones numéricas y citoquímicas más o menos importantes bajo la influencia de las hormonas sexuales, particularmente los estrógenos, durante el ciclo estrual a nivel tanto de ovario como de glándulas salivales.

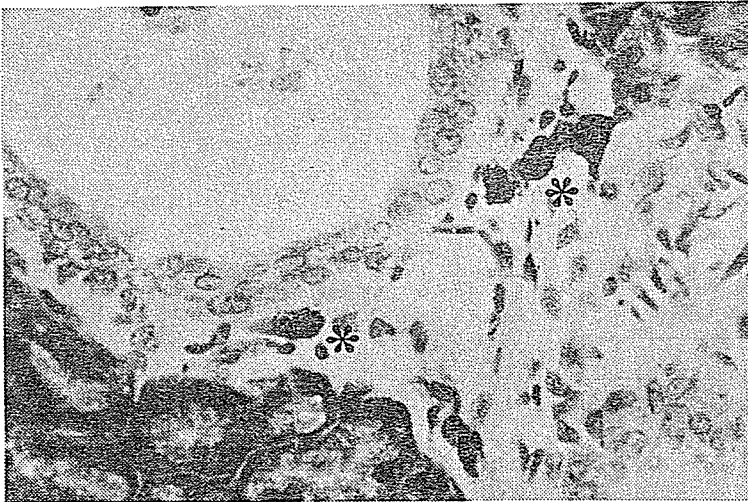


Figura 1: Glándula Submaxilar 25 x A.T.O. Mastocitos periductales. Etapa Estro.



Figura 2: Glándula Submaxilar 25 x A.T.O. Mastocitos interacinares. Etapa Estro.

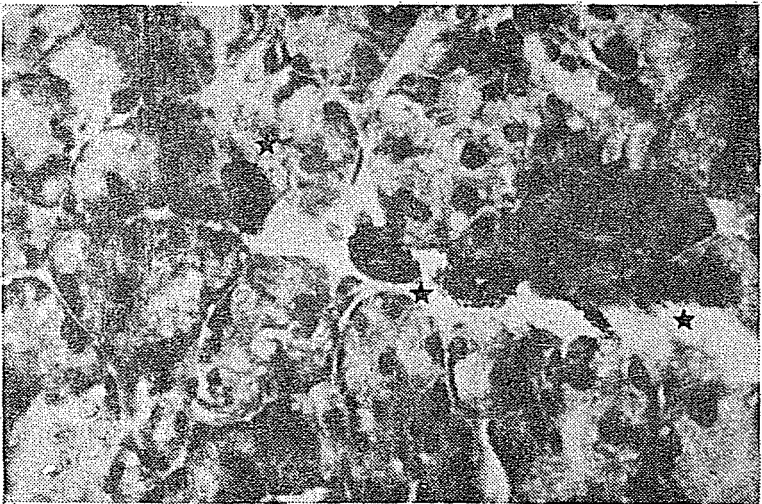


Figura 3: Ovario 10 x A.T.O. Mastocitos perivasculares en la médula. Etapa Estro.

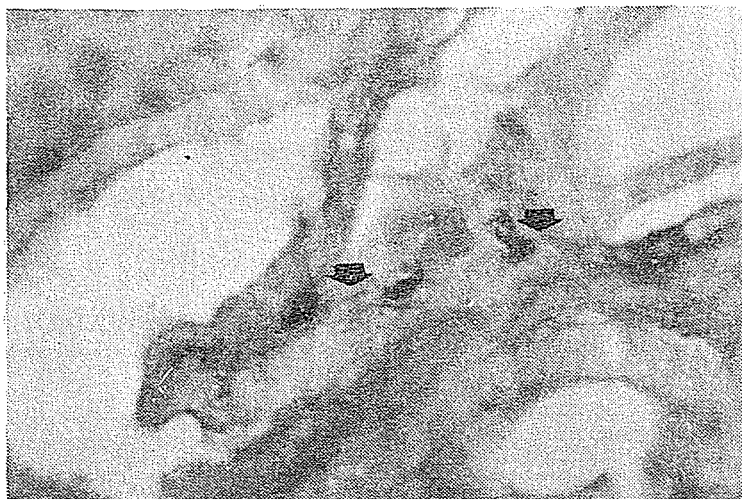


Figura 4: Oviducto 25 x AB-PAS PA 2,5 Mastocitos de localización interfascicular.

CONCLUSIONES

- 1°- Durante el ciclo estrual, las células mastocitarias experimentan variaciones en el número, tamaño, localización y comportamiento citoquímico que son semejantes en ambos órganos.
- 2°- La glándula submaxilar en el estro, presenta un incremento estadísticamente significativo de mastocitos con respecto a las otras etapas. Este hecho se presenta similar en ovario.
- 3°- La población mastocitaria de la glándula submaxilar experimenta cambios citoquímicos y numéricos más importantes durante el ciclo que la glándula sublingual.
- 4°- Se sugiere que las modificaciones numéricas podrían ser un reflejo del comportamiento citoquímico debido a cambios que ocurren en la síntesis, maduración y secreción de los gránulos por la influencia hormonal.

BIBLIOGRAFIA

- 1- BARKA, T.; ANDERSON, P.: Histoquímica. Atika S.A., Madrid, 1968.
- 2- BRANDON, J.; EVANS, J.: Changes in uterine Mast cells during the Estrous cycle in the syriam Hamster. *Am. J. of Anat.* 167: 241, 1983.
- 3- COMBS, J. W.: Maturation of rat mast cells. *J. cell. Biol.* 31 (3): 563, 1966.
- 4- FERRARIS, G. de; RINS de DAVID, M.; GOLDRAIJ, A.: Influencia de la Diabetes sobre mastocitos de glándulas salivales de rata. *Rev. Fac. Odont.* 11: 57, 1979. U.N.C.
- 5- FERRARIS, G. de; CROSA, M. de; LANFRI, C.: Glándulas salivales. Estudio citoquímico y cuantitativo de la población mastocitaria. *Rev. Fac. Odont.* 12: 98, 1980. U.N.C.
- 6- FERRARIS, G. de; DAVID, M. L. R. de; CROSA, M. E.; GOLDRAIJ, J. A.: Hormonas sexuales y población mastocitaria en glándulas salivales. *Rev. Oclont.* 14: 15, 1986.
- 7- GONNELLA, J. S.: Enfermedad de las células cebadas o mastocitos. *Prog. Canc. Clín.* 3: 307, 1970.
- 8- HARVEY, E.: Mast Cell distribution in the uterus of cycling and pregnant Hamsters. *Anat. Rec.* 148: 507, 1964.
- 9- INVERSON, O. H.: Mast cells in the myometrium of the human cervix uteri and changes caused by adrenergic and estrogenic hormones. *Acta Path Microbiol. Scand* 49: 337, 1960.
- 10- JONES, R.; DUVAL, D.; GULLETTE, L.: Rat ovarian mast cells: Distribution and cycle changes. *Anat. Rec.* 197: 489, 1980.
- 11- MODAT, G.; BENMDAREK, A.; LALAURIE, M.: Variations quantitatives du nombre et de la taille des mastocytes peritoneaux chez la ratte au cours du cycle sexual normal, apres ovariecto mie et administration d'estrogenos. *C.R. Soc. Biol.* 176: 675, 1982.
- 12- PADAWER, J.: Endocrine influences on the mast cell of the rat. *Anat. Rec.* 124: 659, 1956.
- 13- PAYWE, J.; Mc GADEY, H.; JOHNSON, M.; MOORE, M.; THOMPSON, G.: Mast cell in the hamster harderian gland: sex differences hormonal control and relationshit to porphyrin. *J. Anat.* 135: 451, 1982.
- 14- RINS de DAVID, M. L.; PARIANTI, I.; MONIS, B.: Glicocaliz Luminal de los conductos de las glandulas salivales de la rata. *Rev. Fac. Cienc. Med.* XXXV: 7, 1977.
- 15- SCHWARTZ; NEENA, B.: A model for the regulation of ovulation in the rat. *Rec. Prog. in Horm. Res.* 25: 1, 1969.
- 16- SHAFFER, W. G.: Endocrine influences on the mast cell of the rat. *Anat. Rec.* 124: 659, 1956.
- 17- SZEGO, C.; GITIN, G.: Ovarian histamine depletion during acute hyperactive response to luteinizing hormone. *Nature* 201: 682; 1964
- 18- WESTIN, B.: The influence of some ovarian hormones on the ocurrence of mast cells in the mouse uterus. *Acta Micr. Scand* 36: 337, 1955.
- 19- WURTMAN, R.: An effect of luterinizing hormone on the fractional perfusion of the rat ovary. *Endocrinology* 75: 927, 1964.