

Laboratorio Fisiología Animal Aplicada
Facultad de Farmacia, Barcelona,
(Prof. A. Fraile)

Distribución de células cebadas en mesenterio de rata

por

A. Núñez, F. Vela y M. Fosalba

(Recibido para publicar el 13 de octubre de 1965)

Desde los tiempos de RECKLINGHAUSEN (14), KÜHNE (6), KÖLLIKER (5), y muchos otros autores (7), entre los que destacan con decisivas aportaciones WALDEYER (15), EHRLICH (3), CAJAL (13) y MICHELIS (10, 11), se conoce la existencia y morfología de las células cebadas en los diversos órganos de muchas especies animales.

En la rata y en el ratón las células cebadas presentan una morfología muy típica y están provistas de abundantes granulaciones grandes, esféricas o poliédricas (8) que resultan claramente mayores que en otros mamíferos, incluido el hombre, donde las granulaciones son además irregularmente ovaladas o aplastadas.

Las células cebadas existen, prácticamente, en todas las regiones corporales y su cantidad depende, al parecer, de la proporción de tejido conjuntivo de que un órgano disponga (7, 12) y de la especie animal de que se trate: numerosas en el hombre y mono, más aún en el ratón y la rata, numerosísimas en los

peces (1), en cambio, escasas en el conejo.

Entre otras zonas muestra particular interés el mesenterio por ser, de las membranas serosas, la más asequible a un ensayo de cuantificación dada la abundancia de células cebadas que allí se encuentran y su distribución en grupos más o menos aislados en los espacios avasculares o formando filas en la vecindad de los vasos sanguíneos (2, 9).

Ante la carencia de datos cuantitativos que acrediten la distribución y densidad de población de células cebadas en mesenterio, y considerando de gran interés su evaluación por las relaciones que ligan a las células cebadas con muchas funciones orgánicas a través de su probable influjo en la irrigación de los órganos y otras diversas actividades fisiológicas, nosotros hemos puesto a punto un método para el estudio de la distribución y numeración de células cebadas en mesenterio (que aplicamos en rata), lo que constituye el objeto del presente trabajo.

Material y métodos

Realizamos nuestros ensayos sobre ratas albinas de raza Wistar, procedentes de nuestra colonia estabilizada desde hace varios años bajo una dieta standard y en condiciones ambientales constantes. Los animales utilizados para el presente trabajo han sido exclusivamente machos, agrupados en cuatro lotes de 2, 4, 6 y 12 meses de edad respectivamente.

Para el ensayo se sacrifican los animales, previo ayuno de 24 horas, mediante vapores de cloroformo en recipiente cerrado y se procede a inyectar intraperitonealmente solución de Carnoy a la dosis de 10 ml. por cada 100 gr. de peso corporal, permitiéndose actuar esta solución durante 10 minutos. A continuación se abre la cavidad abdominal, se derrama el contenido líquido remanente y se lava el interior de la cavidad con abundante agua destilada, pudiéndose ya proceder a tomar directamente muestras del mesenterio. Para ello, se levanta un asa intestinal y se coloca cada zona de mesenterio, de forma natural sin ejercer tracciones, entre una pieza anular de conglomerado de corcho y una lámina metálica también anular provista de tres o más púas que, clavándose en el marco de corcho, mantienen la membrana mesentérica en su disposición natural original. Las dimensiones de los marcos anulares, de corcho y metálico, no son críticas; los empleados por nosotros tienen 14 mm. de diámetro exterior y 6 mm. de diámetro interior, y el corcho un grosor de tres milímetros; como marco metálico pueden usarse chinchetas de dibujo de la forma descrita. La operación se repite a lo largo de todo el mesenterio hasta colocar tantos marcos como sea posible.

Una vez colocados los marcos se disecciona el paquete intestinal cortando el mesenterio de raíz y se lava de nuevo el conjunto con agua destilada. Estirando su-

vemente desde ambos extremos y rasgando las hojas mesentéricas entre marco y marco donde fuere preciso, se rectifica el tubo intestinal y se mide su longitud sobre una regla. Después se determinan las posiciones de los diversos marcos midiendo su distancia particular al punto de origen formado por el extremo pilórico y se expresa esta distancia en tanto por ciento con respecto a la longitud total del tubo intestinal; el número resultante será la designación de la zona mesentérica referida. De esta forma podrán ser comparadas regiones homólogas de distintos animales.

Determinada ya la posición relativa de cada marco se les separa del tubo intestinal recortando a su alrededor el tejido superfluo.

Para visualizar las células cebadas en los trozos de membrana mesentérica enmarcados por el sistema descrito, empleamos un sistema de microscopía fluorescente fundado en el descrito por HAITINGER (4) para la demostración de mucus y utilizando como fluorocromo el anaranjado de acridina. Este colorante fluorescente se utiliza disuelto al 1/20.000 en una solución tamponada a $pH=3,0$ de fosfato monopotásico y ácido clorhídrico en las proporciones adecuadas. La técnica seguida es la siguiente:

Se aplica la solución del colorante por medio de un cuentagotas sobre los marcos dispuestos con la parte metálica hacia abajo, de modo que el colorante quede retenido en el orificio del corcho; se le deja actuar 5 minutos, al cabo de los cuales se le retira mediante papel de filtro cuidando no dañar la membrana mesentérica. Se lava de la misma forma 3 ó 4 veces con la solución tampón que sirvió para preparar el colorante, hasta que el papel de filtro no arrastre más fluorocromo y entonces se colocan los marcos en cámara húmeda hasta el momento de su observación; de esta forma se conservan en buenas condiciones durante varias horas sin precisar montaje.

Para la observación se colocan sucesivamente los marcos sobre un portaobjetos UV y se examinan directamente con el microscopio de fluorescencia provisto de cuadrícula de conteo en el ocular. La imagen observada presenta las células cebadas intensamente fluorescentes en color rojo-cobre destacando nítidamente sobre fondo negro entre el resto de las estructuras (núcleos de células conjuntivas, fibras, etc.), que presentan un tono verde-amarillento muy débil. Aunque en la práctica no resulta necesario, puede eliminarse la imagen verde-amarillenta de las estructuras acompañantes superponiendo al ocular un filtro rojo débil, con lo que la imagen observable queda reducida a las células cebadas exclusivamente.

Para el conteo se procede a numerar el total de células cebadas observadas en el retículo ocular, sumando las de varios campos y hallando el valor medio. Las cifras encontradas se refieren a 1 mm^2 de área mesentérica, previo

calibrado del rectículo mediante un micrómetro-objetivo.

Para hacer el estudio estadístico de los resultados se ha considerado el mesenterio dividido en 25 zonas correspondientes a 25 segmentos de igual longitud del tubo intestinal desde píloro hasta recto. Se aceptan como valores de una misma población a todos los correspondientes a una misma zona homóloga en los respectivos animales. Obtenemos así 25 poblaciones cuyos valores medios afectados por las correspondientes desviaciones representan el número de células cebadas por milímetro cuadrado de área de las 25 zonas mesentéricas.

Resultados

Los resultados obtenidos al aplicar el método descrito a ratas machos de 2, 4, 6 y 12 meses de edad se recogen en la tabla I donde se expresan los valores medios observados, junto con sus corres-

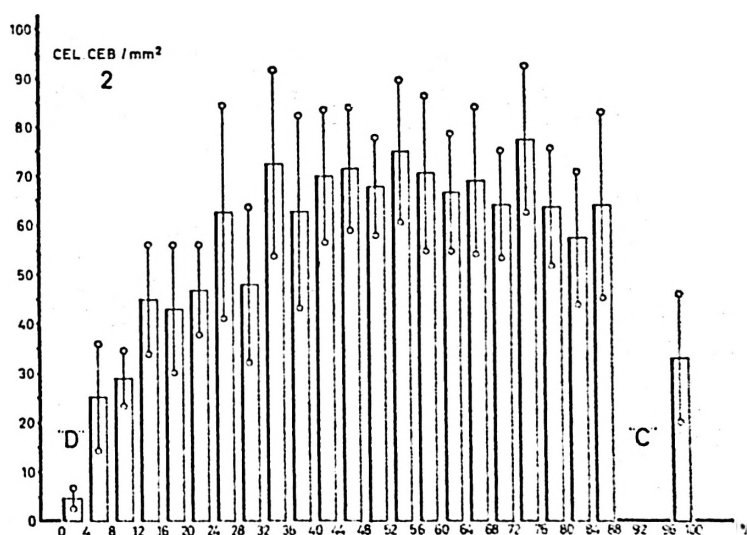


FIG. 1. Contaje y distribución de células cebadas en mesenterio de ratas macho de 2 meses de edad, en función de la distancia a píloro, expresado en % de longitud total de intestino.

TABLA I

Distribución de Células Cebadas en mesenterio de ratas ♂, a diversas edades; valores medios expresados en número de células cebadas/mm² de área de zonas avasculares, con desviación standard (σ) y error medio de la media (ϵ).

N.º de zona	Distancia a pílora %	2 meses (11 ♂)			4 meses (16 ♂)			6 meses (16 ♂)			12 meses (10 ♂)		
		m	σ	ϵ	m	σ	ϵ	m	σ	ϵ	m	σ	ϵ
1	0-4	5,1	1,62	1,14	3,1	2,3	0,87	—	—	—	1,16	0,28	0,16
2	4-8	25,2	9,29	3,51	25,1	10,5	3,03	28,1	6,04	2,28	14,2	6,4	2,61
3	8-12	29,2	5,15	1,95	31,3	7,2	2,17	23,8	3,42	1,39	17,3	11,4	5,10
4	12-16	45,1	10,49	3,72	39,0	7,7	1,72	37,2	12,34	4,11	28,7	8,1	2,40
5	16-20	43,3	12,50	3,77	48,1	12,8	3,20	41,5	9,13	2,88	37,8	14,7	5,20
6	20-24	47,0	8,37	2,52	49,3	12,6	3,15	47,4	10,06	2,68	44,2	19,0	5,50
7	24-28	62,7	20,90	6,00	54,3	12,42	3,20	48,6	13,97	3,88	43,6	19,2	5,60
8	28-32	48,4	15,25	4,82	60,0	15,3	4,10	54,7	9,19	2,55	46,5	20,2	6,50
9	32-36	72,5	18,42	4,90	64,6	12,7	2,90	51,5	10,03	2,68	50,2	18,8	6,00
10	36-40	62,9	19,16	6,79	69,0	12,2	2,90	62,4	12,59	3,36	49,7	17,2	4,60
11	40-44	70,1	13,16	4,16	63,2	12,2	2,90	65,2	12,70	3,83	49,3	23,3	7,00
12	44-48	71,3	11,83	3,40	67,8	14,1	3,42	59,3	10,59	3,06	49,0	18,9	6,35
13	48-52	67,9	9,53	2,87	62,2	12,5	3,03	63,1	20,33	6,14	61,0	24,2	7,33
14	52-56	75,1	13,86	4,38	68,4	13,5	3,18	61,6	12,87	3,57	55,2	23,8	7,97
15	56-60	70,3	15,75	4,98	64,4	13,5	3,48	59,4	15,63	4,97	56,3	21,3	6,27
16	60-64	66,7	11,54	3,48	63,2	8,4	2,24	71,7	16,72	5,29	54,2	16,9	5,40
17	64-68	69,1	14,71	4,08	67,5	11,9	2,80	62,7	20,23	6,40	55,4	16,9	6,00
18	68-72	63,9	10,36	3,13	59,4	6,88	2,00	66,0	21,76	6,88	57,2	11,3	3,48
19	72-76	77,1	14,74	4,45	68,8	12,5	3,22	59,5	26,87	8,50	58,6	24,9	10,00
20	76-80	63,5	11,60	3,86	61,5	10,7	2,67	64,4	12,61	3,80	57,2	16,6	5,95
21	80-84	57,5	12,98	4,32	60,0	12,0	3,33	63,4	19,00	6,33	56,0	17,3	6,66
22	84-88	64,0	18,59	6,59	63,1	16,9	5,99	61,9	13,56	6,78	68,2	22,1	13,00
23	88-92	—	—	—	66,7	15,8	11,20	—	—	—	—	—	—
24	92-96	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
25	96-100	33,1	12,59	5,14	37,4	13,5	4,27	41,1	5,05	2,52	35,0	13,3	4,00

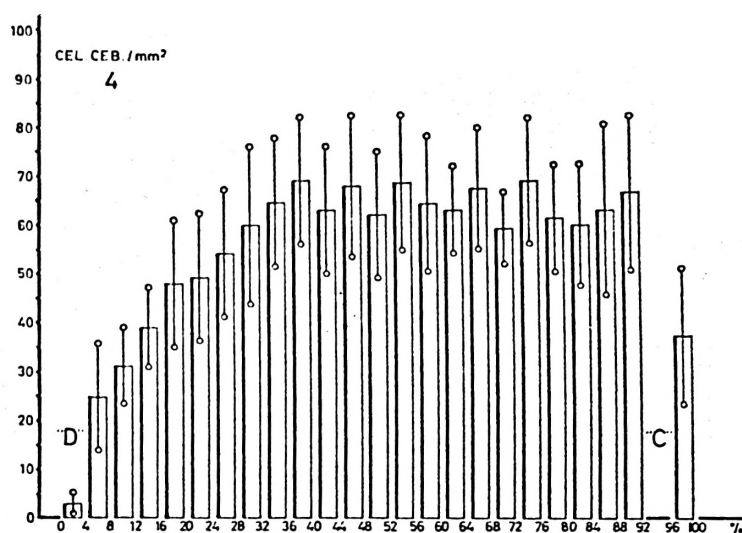


FIG. 2. Contaje y distribución de células cebadas en mesenterio de ratas macho de 4 meses de edad, en función de la distancia a píloro, expresado en % de longitud total de intestino.

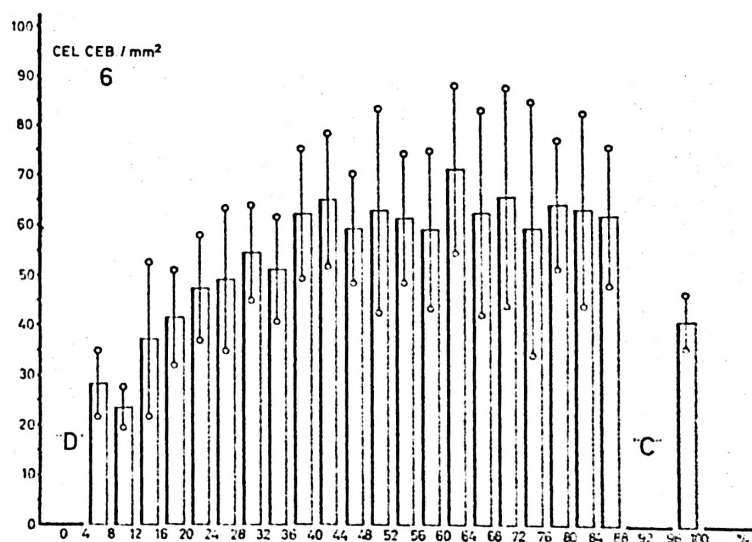


FIG. 3. Contaje y distribución de células cebadas en mesenterio de ratas macho de 6 meses de edad, en función de la distancia a píloro, expresado en % de longitud total de intestino.

pondientes desviaciones standard y error medio de la media para cada una de las 25 zonas mesentéricas exploradas. Algunas casillas de dicha tabla, correspondientes a las zonas mesentéricas números 1 y 23-24 han quedado sin cubrir debido a que dichas zonas, que pertenecen a la región extrema del duodeno (la 1) y a la porción del ciego (las 23 y 24), muestran

por ciento de la longitud total del intestino.

Discusión

Del estudio de los valores numéricos consignados en la tabla I y de las representaciones gráficas adjuntas puede deducirse que en las ratas machos estu-

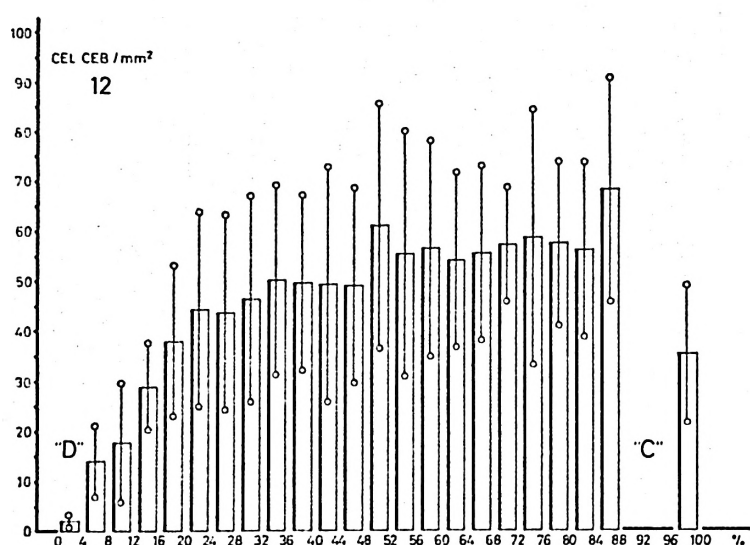


FIG. 4. Contaje y distribución de células cebadas en mesenterio de ratas macho de 12 meses de edad, en función de la distancia a píloro, expresado en % de longitud total de intestino.

muy poca amplitud de mesenterio y la dificultad técnica de colocar marcos en ellas impide disponer de suficiente número de muestras para poder establecer la correspondiente cifra.

El aspecto de la distribución de las células cebadas a lo largo del mesenterio se representa separadamente para cada edad en las gráficas 1, 2, 3 y 4 donde se consignan, junto con los valores medios observados, las correspondientes desviaciones standard; en dichas gráficas se representa el número de células cebadas por mm² de área mesentérica avascular, en función de la distancia de cada zona mesentérica a píloro, expresada en tanto

diadas en las condiciones experimentales descritas, las células cebadas de las zonas avasculares del mesenterio, siempre escasas en la zona duodenal, tienden a aumentar en número conforme se van considerando las zonas siguientes en la dirección duodeno-íleon, alcanzándose pronto un valor que se mantiene en meseta en la mayor parte de la zona del íleon, particularmente en su porción distal, registrándose de nuevo valores más bajos en la región del intestino grueso.

La tónica general de valores crecientes de duodeno a íleon, formación de meseta, y nuevo descenso de los valores, ha sido observada en todas las edades ex-

ploradas y los valores absolutos de las zonas homólogas de las diversas edades, comparados entre sí, no muestran diferencias estadísticamente significativas, por lo que parece puede concluirse que la distribución de células cebadas en las zonas avasculares del mesenterio presenta valores típicos constantes en las diversas regiones, independientemente de la edad, lo que nos ha llevado a suponer que esta particular distribución va ligada al particular funcionalismo de cada tramo entérico, posiblemente a los mecanismos de absorción, por lo que estamos realizando en la actualidad una amplia gama de experiencias en este sentido.

Resumen

Se exponen los detalles técnicos de un método para la exploración cuantitativa de la distribución de células cebadas en mesenterio y se comunican los resultados de la aplicación de dicho método a ratas Wistar machos de 2, 4, 6 y 12 meses de edad, concluyéndose que el número de células cebadas (cuyos valores absolutos se consignan) tiende a subir en la dirección duodeno-íleon, estableciéndose valores en meseta en la zona del íleon (particularmente en la región distal) para volver a decrecer en la región del intestino grueso, y que estos valores no son modificados por la edad.

Summary

Distribution of mast cells in rat

A new quantitative method to study the distribution of mast cells in the mesentery of the rat is detailed. Essentially, the method involves the mechanical fixation of the mesentery between a piece of cork and a metal support attached to the cork. Several of these devices are distributed along the mesentery in order to dye, to observe and to count the mast cells. The presence of the mast cells is

demonstrated by fluorescent microscopy using acrydine orange as fluorochrom. In the present work are detailed the results obtained by the application of this method to rats of the Wistar strain, distributed in four lots according to the age. The rats were 2, 4, 6, and 12 months old.

It was found that the number of mast cells (the actual number founded is detailed in the present work) increases in the direction duodenum-ileum, reaching a constant value at the ileum, which is specially true for the distal portion. For the large intestine a decrease was found in the number of mast cells. The age appears to have no influence in the distribution of the mast cells in the rat mesentery.

Bibliografía

- (1) BOLTON, L.: *J. Morph.*, **54**, 549, 1933.
- (2) DANTSCHAKOFF, W.: *Arch. f. mikr. Anat.* **87**, 497, 1916.
- (3) EHRLICH, P.: *Arch. f. mikr. Anat.*, **13**, 263, 1877.
- (4) HAITINGER, M.: «Fluoreszenzmikroskopie» Leipzig, Akademische Verlagsgesellschaft m.b.H., pp. 53, 67, 1938.
- (5) KÖLLIKER, 1867, Citado por LEHNER.
- (6) KÜHNE, W., 1864, Citado por LEHNER.
- (7) LEHNER, J.: *Ergebn. d. Anat. u. Entw. gesch.*, **25**, 67, 1924.
- (8) MAXIMOW, A. A. y BLOOM, W.: «Tratado de Histología» 3.^a ed. (Labor, Argentina), p. 55, 1949.
- (9) MICHELS, N. A.: *La Cellule*, **33**, 339, 1923.
- (10) MICHELS, N. A.: *Arch. Path.*, **11**, 775, 1931.
- (11) MICHELS, N. A.: *Am. J. Anat.*, **57**, 439, 1935.
- (12) NAKAJIMA, Y.: *Tr. Jap. Path. Soc.*, **18**, 150, 1928.
- (13) RAMÓN y CAJAL, S.: «Manual de Anatomía patológica general» 1.^a ed., Barcelona, 1890.
- (14) V. RECKLINGHAUSEN, F.: *Virchows Arch.*, **28**, 157, 1863.
- (15) WALDEYER, W.: *Arch. f. mikr. Anat.*, **11**, 176, 1875.

