

ARCHIVOS MEXICANOS DE  
**anatomía**

**17/1/80**

**ARCHIVOS MEXICANOS DE ANATOMIA**

**Publicación cuatrimestral**

**Organo oficial de la Sociedad Mexicana de Anatomía**

**Apartado Postal 70-278**

**México 20, D. F.**

**EDITOR: DRA. ALICIA ALVAREZ RAMÍREZ**

**CO-EDITORES: DRA. LUZ MARÍA FLORES PLAUCHU  
DR. NATALIO GONZÁLEZ ROSALES**

**CONSEJO EDITORIAL:**

**DR. ENRIQUE ACOSTA VIDRIO  
DR. SALVADOR DE LARA GALINDO  
DR. GILDARDO ESPINOSA DE LUNA  
DR. MARIO GARCÍA RAMOS  
DR. MANUEL GRANADOS NAVARRETE**

---

**Impresiones Modernas, S. A.  
Sevilla 702-Bis. Col. Portales  
México 13, D. F.**

## CONTENIDO

- 1 Editorial.
  
- 3 Observación de las vías externas del drenaje acuoso del ojo en algunos mamíferos.  
Biól. Ma. Elena Cuspinera de G. y Dr. Salvador de Lara Galindo.
  
- 16 Caracterización funcional de células de Leydig de pollos recién nacidos en cultivo celular.  
Dres. M. Romano, M. C. Aguilar, M. González del Pliego y E. Pedernera.
  
- 21 Role of lymphatic vessels in the defense mechanism of the lung of the calf.  
Dres. Miguel A. Galina Hidalgo, M.V.Z., M.S., Ph. D. y Robert A. Kainer, D.M.V., M.S.
  
- 33 Bases anatómicas de la cirugía tumoral mamaria.  
Dres. Alberto Pérez García, María Elena Pérez González y Horacio Olvera Hernández.

**MESA DIRECTIVA DE LA SOCIEDAD MEXICANA  
DE ANATOMIA**

**1979 — 1980**

**Presidente:**

MC. Manuel Granados Navarrete

**Secretario:**

MC. Alberto Pérez García

**Tesorero:**

MC. Ana María Aceves García

**Primer Vocal:**

MC. Cassandra Núñez Tovar

**Segundo Vocal:**

MC. Joaquín Reyes Téllez

**Vocales por:**

**Histología:** MC. Rose Eisenberg Wieder

**Embriología:** Biól. Ma. Elena Castillo Romero

**Radiología:** MC. Carlos Castañeda Zúñiga

**Anatomía Comparada:** M.V.Z. Eugenio Alfredo Millán Dena

**Antropología:** Antr. Ma. Elena Cuesta

# XI CONGRESO INTERNACIONAL DE ANATOMIA

## COMITE ORGANIZADOR NACIONAL

### *Presidente Honorario*

LIC. JOSÉ LÓPEZ PORTILLO  
Presidente Constitucional de  
los Estados Unidos Mexicanos

### *Presidente*

DR. ENRIQUE ACOSTA VIDRIO

### *Vice-Presidentes*

DR. SALVADOR DE LARA GALINDO  
DR. ROGELIO CAMACHO BECERRIL †

### *Secretaria General*

DRA. ANA MARÍA ZARAGOZA LÓPEZ

### *Coordinador General*

DR. MARIO GARCÍA RAMOS

### *Tesorero*

DR. CARLOS GILBERT RODRÍGUEZ

### *Coordinador Científico*

DR. MIGUEL A. GALINA

### *Relaciones Públicas*

DR. GILDARDO ESPINOSA DE LUNA

### *Relaciones Exteriores*

DR. LUIS CÁRDENAS RAMÍREZ

### *Coordinador de Exposiciones*

DR. JORGE MARTÍNEZ GALINDO

### *Prensa y Promoción*

DR. XAVIER REYES VALDOVINOS  
DR. MANUEL ALONSO PÉREZ  
DRA. GUILLERMINA REYES RAZO

### *Secretarios Auxiliares*

DRA. ALICIA ALVAREZ RAMÍREZ  
DR. GUILLERMO AVELLA MARTÍ  
DR. VICENTE CÁRDENAS TOVAR  
DR. PAUL GARCÍA TORRES  
DR. GILBERTO GÓMEZ MAYORGA  
DR. CARLOS GRAU LÓPEZ  
DR. JOAQUÍN LÓPEZ CABAL  
DR. RAÚL MORÍN ZARAGOZA  
DR. HORACIO OLIVA ABARCA

### *Coordinador Administrativo*

SRA. MARÍA VICTORIA DE ACEVEDO

### *Contaduría*

C.P.T. FIDEL RUIZ COLUNGA

### *Asesor de Organización*

COREI, S. A.

### *Línea Aérea Oficial*

AEROMÉXICO

### *Agencia de Viajes Oficial*

WAGONS-LITS MEXICANA, S. A.  
Paseo de la Reforma No. 20  
México 1, D. F.

### *Oficinas del Comité Organizador*

Av. Morelos No. 20-709  
México 1, D. F. o  
Apartado Postal 31-311  
México 1, D. F.  
Teléfono: 512-87-75

## COMITE ORGANIZADOR INTERNACIONAL

PROFR. GIUSEPPE C. BALBONI  
*Secretario Generale de la Societa  
Italiana di Anatomia*  
Istituto di Istologia, Viale Picraccini 18  
50139 Firenze, ITALIA

PROFR. ANDRÉ DELMAS  
*Secrétaire Général de la Fédération  
Internationale des Associations d'Anatomistes*  
Laboratoire d'Anatomie,  
45 rue des Saints Pères  
Paris 6è FRANCIA

PROFR. ARMANDO DOS SANTOS FERREIRA  
Instituto de Anatomia Normal  
Facultad de Medicina, Universidad de Lisboa  
Lisboa 4. PORTUGAL

PROFR. SERGEI FEDOROFF S. PH. D.  
University of Saskatchewan,  
Department of Anatomy  
Saskatoon, CANADA 57N 0W0

PROFR. WOLF HEIDDEGER  
Anatomisches Institut der Universität  
Pestalozzistrasse 20  
CH 4055 Basel, SUIZA

PROFR. J. JIMÉNEZ COLLADO  
Facultad de Medicina  
Cátedra de Anatomía, Universidad Complutense  
Madrid, ESPAÑA

PROFR. JELENA KRMPOTIC NEMANIC  
Salata 11  
Zagreb, YUGOSLAVIA

PROFR. DR. RENATO LOCCHI †  
Department of Morphology  
Escola Paulista de Medicina. Rua Botucatu 720  
Vila Clementino, BRASIL

PROFR. DR. W. KÜHNEL  
Melatner Strasse 211  
Gesellschaft der Schrelftführer  
D-5100 Aachen, ALEMANIA

PROFR. JACK DAVIES  
Department of Anatomy, Vanderbilt University  
School of Medicine, Nashville,  
Tenn. 37232, U.S.A.

PROFR. LIBERATO J. DI DIO  
Medical School of Ohio  
Graduate School C.S. No. 10008  
Toledo, Ohio 43699, U.S.A.

PROFR. ERHART EROS A.  
Associação Panamericana de Anatomia,  
Departamento de Anatomia,  
Universidade de Sao Paulo, Caixa Postale 2921  
São Paulo, BRASIL

PROFR. CARL-HERMAN HJÖRSTTJÖ †  
Lunds Universitet  
Anatomiska Institutionem, Bishopagatan 7  
Lund, SUECIA

PROFR. EKKEHARD KLEISS  
Univesidad de los Andes, Apartado No. 38  
Mérida, VENEZUELA

PROFR. ETIENNE LEGAIT  
*Secrétaire Général de  
L'Association des Anatomistes*  
U.E.R. de Sciences Médicales, A.B.P. 1080  
54019 Nancy, FRANCIA

PROFR. JOSÉ LUIS MARTÍNEZ  
*Presidente de la Asociación  
Panamericana de Anatomía*  
Universidad Nacional de Buenos Aires  
Buenos Aires, ARGENTINA

PROFR. MAURICIO MOSCOVICI  
Universidade Federal Fluminense,  
Niteroi, Río de Janeiro, BRASIL

PROFR. JUGNOSUKE NAKAI  
*President of International Federation  
of the Anatomists*  
Department of Anatomy,  
Faculty of Medicine, University of Tokyo  
Hongo Tokyo 113, JAPON

PROFR. PIETRO MOTTA  
Istituto di Anatomia Umana Normale,  
Universita di Roma, Viale Regina Elena 289  
00161 Roma, ITALIAIA

PROFR. HILEL NATHAN  
Sackler School of Medicine,  
Tel-Aviv University  
Ramat Aviv, ISRAEL

PROFR. DR. GALINA SATUKOVA  
I Moskow Sechenov Medical Institute,  
Department of Anatomy,  
Prospect Karl Marx 18  
Moskow K-9 U.R.S.S.

PROFR. PHILLIP V. TOBIAS  
University of the Witwatersrand  
Johannesburg, SUDAFRICA

## EDITORIAL

La Sociedad Mexicana de Anatomía hace su aparición en el Mundo Científico Nacional en el año de 1959, hace 21 años, con el propósito de fomentar la investigación anatómica y ciencias afines, consolidar las disciplinas morfológicas, sistematizar la formación de maestros de carrera y como objetivos fundamentales: agrupar a los profesores de ciencias morfológicas, unificar los programas, fomentar las relaciones científicas y amistosas, promover e incrementar el establecimiento de bibliotecas, hemerotecas, museos y laboratorios en las instituciones donde se imparten cátedras y pugnar por la organización del Instituto Mexicano de Anatomía.

Con estos propósitos se ha trabajado con todo entusiasmo, reuniéndose los últimos jueves de cada mes en sesiones ordinarias, en las que han participado distinguidos ponentes cuyos trabajos han sido publicados en el órgano oficial de la Sociedad ARCHIVOS MEXICANOS DE ANATOMIA, revista que se ha publicado también periódicamente, con ligeras interrupciones.

Se ha relacionado la Sociedad de Anatomía con profesores tanto extranjeros, como nacionales, los que han prestado su valiosa colaboración, ya como corresponsales o bien como ponentes en los Congresos Nacionales y las Reuniones Nacionales que cada dos años se vienen verificando, en las Escuelas o Facultades de Medicina de los Estados de la República. Desde el I Congreso Nacional se instituyó el premio ANDRES VESALIO, el que cada dos años se ha otorgado a prestigiados maestros tanto de la capital como de los Estados, durante la celebración de los mismos.

Desde su fundación, la Sociedad ha estado representada en los distintos Congresos Internacionales, Panamericanos y Centroamericanos de Anatomía, habiendo quedado afiliada a la Federación Internacional, durante el desarrollo del VII Congreso Internacional, que tuvo verificativo en la Ciudad de Nueva York, del 11 al 16 de abril de 1960.

Hay que destacar el hecho de que durante la celebración de este Congreso la Sociedad Mexicana de Anatomía organizó una sesión extra-

ordinaria con los médicos mexicanos que en gran número asistieron y en donde se designaron como miembros honorarios de la Sociedad a eminentes médicos de los Estados Unidos de Norteamérica, Francia, Inglaterra e Israel.

Fue nuestra Sociedad la que organizó el Primer Congreso Panamericano de Anatomistas en 1961 con gran éxito, Congresos Panamericanos que se han venido realizando cada cuatro años en Venezuela, Estados Unidos, Canadá, y el último en Brasil.

Ardua ha sido la labor de 21 años de trabajo iniciados por connotados maestros, que unidos al entusiasmo de los jóvenes que la han tomado en sus manos y gracias a la rectitud con que se ha procedido, resistiendo los embates de los inconformes que desgraciadamente siempre existen en el medio social y científico, ha triunfado la justicia y como premio al trabajo, a la constancia y a la seriedad de la actuación conjunta, se consiguió la sede del XI Congreso Internacional que se verificará en la Ciudad de México en este año con el aval de la Sociedad Mexicana de Anatomía.

Este número de la Revista de la Sociedad, que marca una nueva etapa, ya que se había suspendido su edición por causa de fuerza mayor, aparecerá durante el desarrollo del Congreso Internacional, por lo que la Mesa Directiva de la Sociedad Mexicana de Anatomía, en funciones, da la más cordial bienvenida a los anatomistas del mundo y aprovecha la oportunidad para enviarles un saludo afectuoso deseándoles una estancia feliz y muchos logros científicos que dignifiquen a las ciencias morfológicas, bases indiscutibles y firmes cimientos del gran edificio de la medicina.

**DR. MARIO GARCIA RAMOS**



## **OBSERVACION DE LAS VIAS EXTERNAS DEL DRENAJE ACUOSO DEL OJO EN ALGUNOS MAMIFEROS**

**Biól. María Elena Cuspinera de G.\*  
Dr. Salvador de Lara Galindo\*\***

### **RESUMEN**

El ángulo iridocorneal es donde se origina la filtración del humor acuoso en el humano y en algunos mamíferos. La obstrucción del drenaje, que puede acontecer entre la cámara anterior y el plexo episcleral es la responsable del glaucoma primario del ángulo abierto. El objetivo de este trabajo es observar la estructura histológica del plexo acuoso angular (conjunto de estructuras de drenaje en aves y mamíferos). Se inician y describen las observaciones en ojos de tlacuache, conejo, perro, gato, cerdo, mono y vaca.

Se encontró que sólo el mono, tlacuache y humano presentan seno venoso escleral y se plantea la posibilidad de que el mecanismo de drenaje del humor acuoso en los otros mamíferos observados sea por micropinocitosis, poros finos o vacuolización de la capa endotelial del plexo acuoso angular.

### **ABSTRACT**

The iridocorneal angle of the eye is the site in which the filtration of the aqueous humor begins in some mammals.

The obstruction of the drainage, that could happen between the anterior chamber and the episcleral plexus is the responsible of the primary glaucoma of open angle. The objective of this paper is to observe the histologic structure of the angular aqueous plexus, or system of structures that drains the aqueous humor in birds and mammals.

We describe the histologic observations in eyes of tlacuache (a marsupial), rabbit, dog, cat, pig, monkey and cow.

We found that only monkey, tlacuache and human beings present escleral venous sinus and we state the possibility that the drainage mechanism of the aqueous humor in the other observed mammals is by means of micropinocitic mechanisms, fine interstice, or vacuolization of the endothelial layer of the angular aqueous plexus.

---

\* Profesor de Anatomía Humana del Departamento de Anatomía de la Facultad de Medicina de la U.N.A.M.

\*\* Jefe del Departamento de Anatomía de la Facultad de Medicina de la U.N.A.M.

## INTRODUCCION

El aparato de filtración en el ojo humano se inicia en el ángulo iridocorneal de la cámara anterior del ojo, y se limita por la superficie posterior de la córnea y la superficie anterior del iris.

Está formado por el aparato trabecular, seno venoso escleral, antes conducto de Schlemm, 25 a 30 canales colectores y los plexos escleral profundo, intraescleral, episcleral y conjuntival. Sirve de vía de drenaje del humor acuoso que se origina en los procesos del cuerpo

ciliar (Fig. 1), de ahí pasa a la cámara anterior a través del orificio pupilar donde penetra en los espacios de la trabécula (Unger, 1960 y Worthen, 1972), posteriormente va al seno venoso escleral, a través de las posibles rutas de su capa endotelial (Rohen, 1969), o por medio de poros finos (Kayes, 1967; Speakman, 1961 y Tripathi, 1971).

Las células de la capa endotelial del seno venoso escleral, son capaces de ocluir los poros, controlando la filtración, también son capaces de almacenar tal cantidad de estos elementos, que crecen exageradamente y se descaman (Rohen, 1958).

De este seno venoso escleral parten los canales colectores que se anastomosan con las vías externas de drenaje que son el plexo escleral profundo, se continúan con el intraescleral que a su vez terminan en el plexo conjuntival donde se conocen con el nombre de venas acuosas, por contener un líquido acelular, y vacían su contenido en las venas con sangre (Fig. 2), (De Buen, 1966 y 1970).

Estas rutas del drenaje acuoso se comprueban histológicamente en cortes de ojo humano perfundidos con tinta china (Francois, 1956 y Philip, 1957), o con moldes de neopreno (Ashton, 1951 y 1952), y que demuestran que el fluido perfundido pasa por todas estas estructuras.

Este aparato de filtración sirve para mantener la presión intraocular en condiciones adecuadas para el buen funcionamiento del ojo.

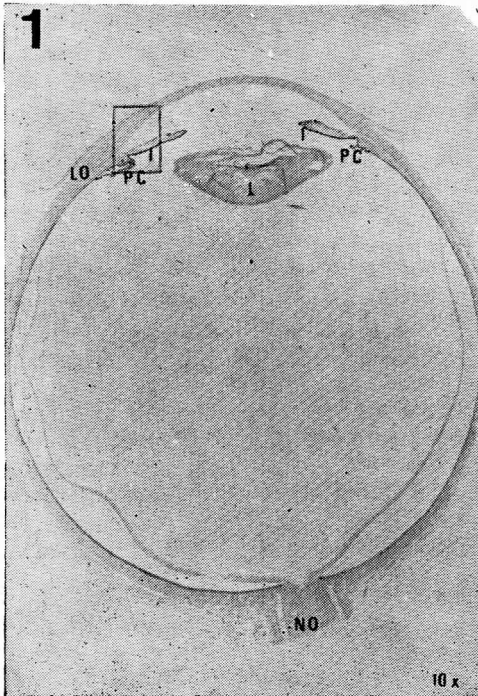


FIG. 1. Es un corte horizontal de ojo humano a 8 micras, teñido con tricrómico de Gallego a 10 X. Se aprecia la Lente (L), Iris (I), Procesos ciliares (PC), Limbo del Ojo (LO) y parte del Nervio Optico (NO).

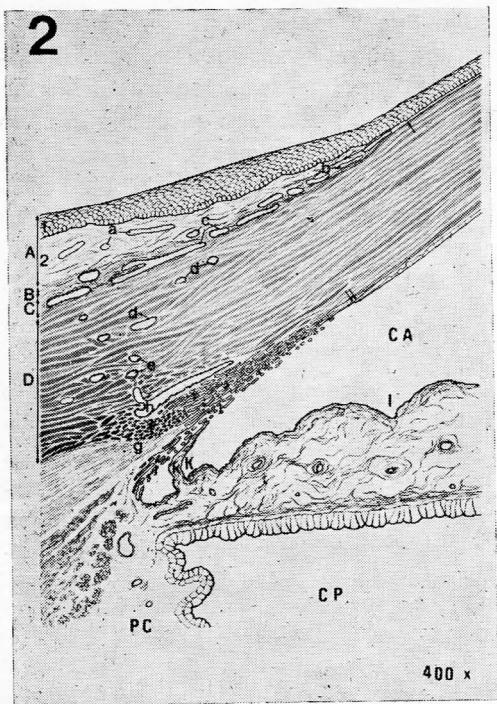


FIG. 2. Esquema de la región del ángulo iridocorneal del ojo humano con las estructuras del aparato de filtración, tomado del libro de Duke Elder ('58), a 400 X. Donde se observa:

- A) La conjuntiva limbal que se forma de:
  - 1. Epitelio.
  - 2. Estroma de tejido conjuntivo laxo.
- B) Cápsula de ténon formada de una no bien definida capa de tejido conjuntivo sobre la episclera.
- C) El estroma limbal se compone de:
  - a. Vasos del estroma conjuntivo.
  - b. Capa de Bowman.
  - c. Vasos episclerales, cortados a diferentes planos.
  - d. Vasos intraesclerales.
  - e. Plexo escleral profundo.
  - f. Espolón escleral, con fibras densas y colágenas.
  - g. Parte anterior del músculo ciliar.
  - h. Lúmen del seno venoso escleral.
  - i. Láminas de la malla trabecular.
  - j. Procesos del iris.
  - k. Ligamento pectíneo (no es constante ni normal en el humano).

A la organización morfológica del ángulo iridocorneal y los canales del drenaje acuoso angulares se les designa según algunos autores como plexo acuoso angular, en ojos de las aves y en algunos mamíferos (Duke Elder, 1958). La sola diferencia entre ellos depende de la naturaleza plexiforme de los canales en mamíferos inferiores.

Gaasterland (1970), hizo estudios de los vasos que se anastomosan en la red episcleral anterior en 32 monos rhesus y encontró que estos vasos siguen un curso directo de arteria y vena, pero no se han hecho estudios en otros mamíferos, por eso es importante el estudio de esta región del ojo en ellos, pues la resistencia alta al drenaje acuoso en el caso de glaucoma primario de ángulo abierto se encuentra en el área de filtración del ángulo iridocorneal en el humano y la obstrucción de este drenaje debe ocurrir en alguna parte del trayecto entre la cámara anterior del ojo y el plexo episcleral. Y al conocer mejor esta región se puede hacer una correlación de las estructuras existentes comparándolas con las del humano.

El objetivo de este trabajo es observar si existe variabilidad interespecífica de las características morfológicas del aparato de filtración del humor acuoso del ojo, la estructura histológica del plexo acuoso angular de los diversos mamíferos comunmente empleados en la investigación, para ayudar a enten-

← D) Tejido escleral y corneal, los cuales emergen en esta región.

(CA), Cámara anterior; (CP), Cámara posterior; (PC), Procesos ciliares; (I), Iris.

der mejor el funcionamiento del aparato de filtración y a dilucidar las causas de algunos tipos de glaucoma de ángulo abierto, todavía no bien conocidas.

### MATERIAL Y METODO

Se obtuvieron bulbos oculares humanos y de los siguientes animales: tlacuache, conejo, perro, gato, cerdo, mono y vaca.

Se fijaron en formol al 10%. Un ojo de cada uno se cortó en 3 segmentos horizontalmente, incluyéndose la porción central o segmento principal por el método de parafina para obtener cortes a 8 micras (Fig. 3). Del otro ojo se tomó una porción del casquete a

nivel de la región ciliar, y se incluyó aplanándose para obtener cortes secantes seriados de la región del ángulo iridocorneal, donde se encuentra la zona de las vías externas de drenaje del humor acuoso (De Buen, 1958). Todos los cortes se tiñeron con los siguientes métodos: H. E., tricrómico de Gallego, tricrómico de Masson, Bodian y PAS.

### RESULTADOS

Los plexos se encuentran definidos o poco definidos según la especie de que se trate, están formados de numerosos canales vasculares de luz amplia y paredes delgadas y que estudiados en cortes tangenciales son de aspecto sinusoidal muy irregulares con escasas

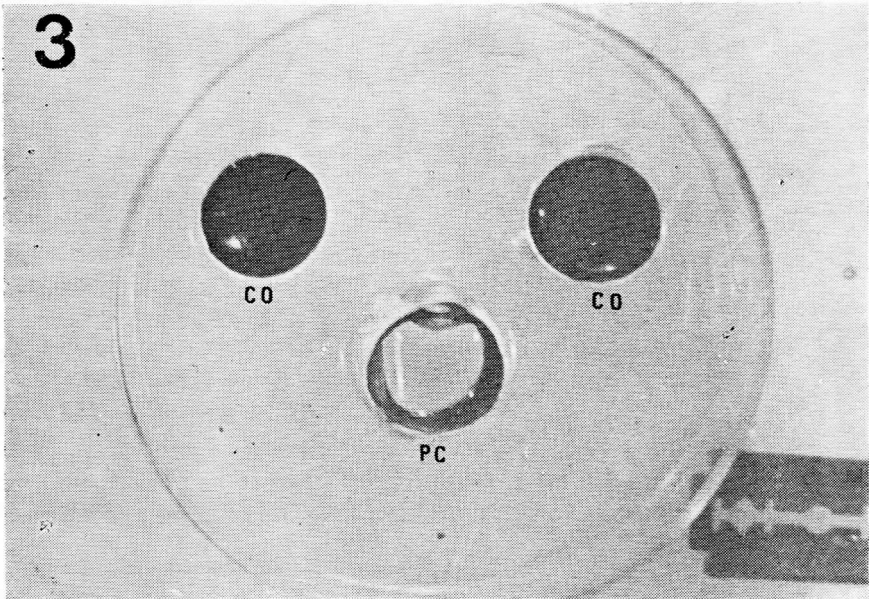


FIG. 3. Fotografía que demuestra cómo se hacen los cortes de ojo para el estudio de cortes horizontales, la Parte Central (PC) es la que se incluye para cortes horizontales, los casquetes oculares están a los lados (CO).

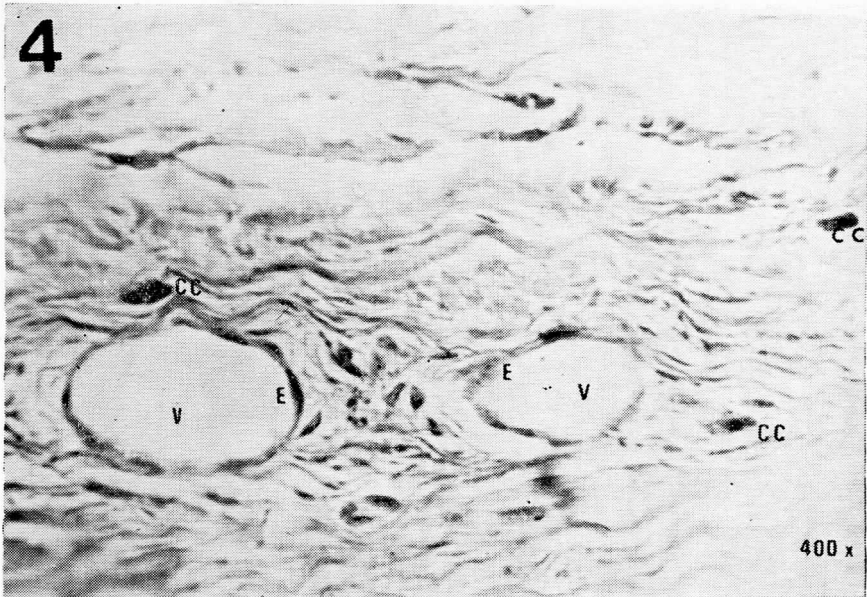


FIG. 4. Corte del plexo episcleral del humano con tinción de Gallego, a 400 X. Los vasos (V) se encuentran bien definidos y están rodeados por su capa endotelial (E), se observan también algunas células cebadas anexas (CC).

fibras musculares lisas en su pared. Esta pared se constituye por una membrana endotelial aplanada, cuyas células tienen el núcleo ovalado y están rodeadas por tejido conjuntivo que es laxo y rico en mucopolisacáridos ácidos, los canales mayores tienen algunos melanocitos formando parte de su pared. También hay células pigmentarias dispersas en la esclera y alrededor de los canales menores, fuera de la membrana endotelial hay células adventiciales o pericitos con núcleo fino y alargado y en algunos tramos se observan células cebadas cerca de la pared vascular o en íntimo contacto con ella, contienen granulaciones en su citoplasma. Estas

se observan en perro, gato, mono, vaca y hombre (Fig. 4).

Algunas veces se encuentran cojinetes probablemente formados por células contráctiles y que hacen protrusión hacia la luz de los vasos, y que dan una oclusión parcial o total de los mismos y la mayoría de éstos se observan en el plexo episcleral de todos los animales aquí estudiados (Figs. 5 y 9). En la vecindad de ellos, hay pequeños troncos nerviosos y fibras nerviosas que van de paso, en todos los plexos y en todos los animales también. En ocasiones se ven arteriolas acompañando a estos canales, envueltos por la misma adventicia, y otras veces las arteriolas se ven solas, con una capa muscular

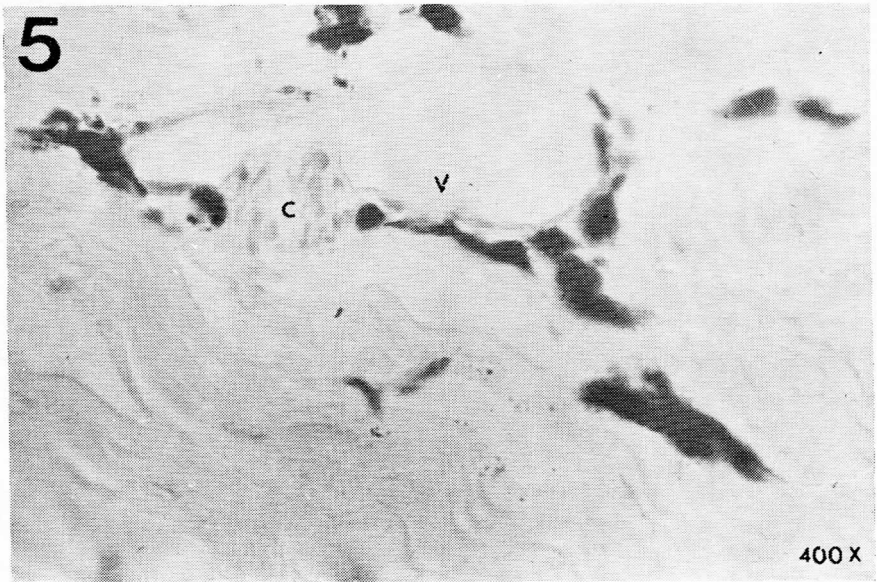


FIG. 5. Cojinete (C) que ocluye parcialmente la luz del vaso en el plexo episcleral de gato teñido con H. E. a 400 X.

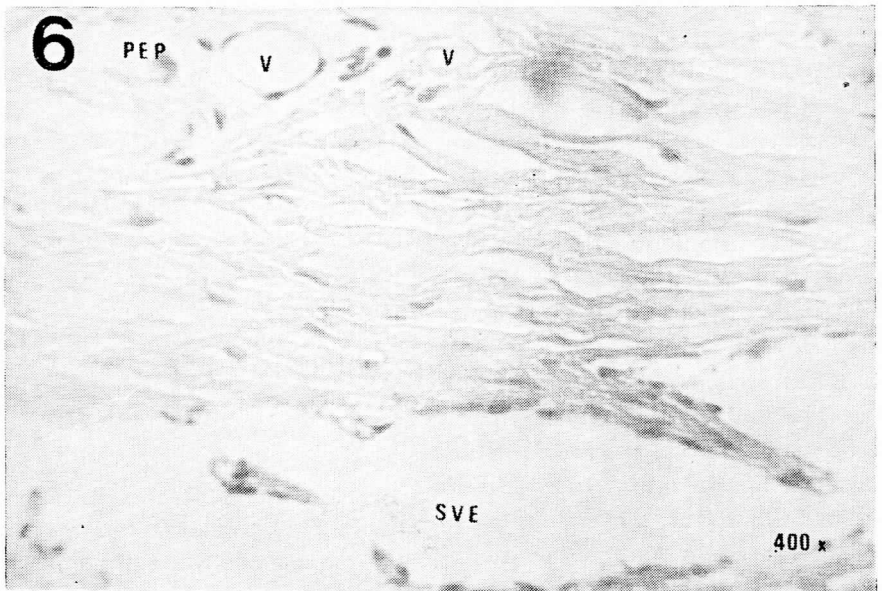


FIG. 6. Seno Venoso Escleral (SVE) de humano a 400 X con PAS. El Plexo Escleral Profundo (PEP) se observa también con sus Vasos (V).

CUADRO I  
 CARACTERISTICAS DE LOS PLEXOS ESCLERALES EN ALGUNOS MAMIFEROS

	<i>Tlacuache</i>	<i>Conejo</i>	<i>Perro</i>	<i>Gato</i>	<i>Vaca</i>	<i>Cerdo</i>	<i>Mono</i>	<i>Hombre</i>
Presencia del seno escleral	++						++	++
Presencia de plexos esclerales	+		++	+	++	+	++	++
Estratificación marcada de plexos intraescleral, episcleral y conjuntival				++	++	++	++	++
Plexo episcleral y conjuntival marcado	++			++				
Plexo episcleral marcado solamente				++				
Pigmento en acúmulos pequeños en el plexo episcleral y conjuntival	++		+			++		
Pigmento en acúmulos pequeños a nivel del plexo escleral profundo.				++	++			++
Pigmento disperso en granulaciones en el plexo intraescleral y episcleral							++	
Definidos	++							
Poco definidos	+							

prominente, acompañada por melancitos y algunas vénulas.

Las características de los plexos esclerales se observan en el cuadro 1.

El seno venoso escleral sólo se encuentra presente en el tlacuache, mono y hombre (Fig. 6).

Estos plexos esclerales están bien definidos en el perro, vaca, mono y el hombre (Fig. 4). Están poco definidos en el tlacuache, gato y cerdo y no se encuentran definidos en el conejo.

La estratificación de los plexos intra, epiescleral y subconjuntival está más

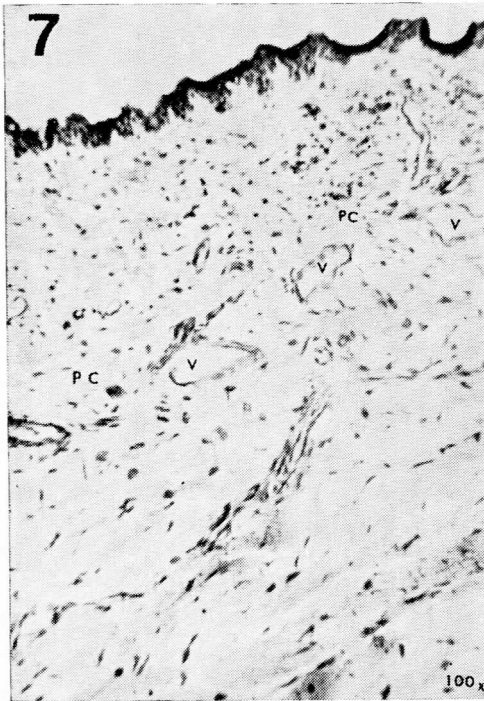


FIG. 7. Flevo Conjuntival (PC) bien definido de conejo, teñido con Bodian, es un corte tangencial a 100 X. Los Vasos (V) se observan en un mismo nivel en este caso.

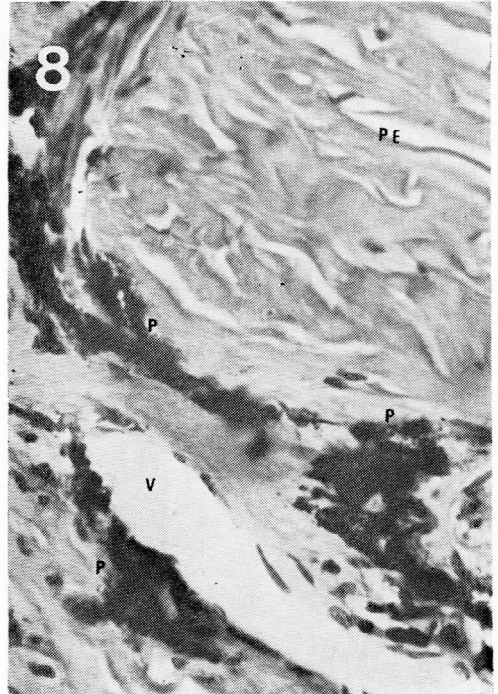


FIG. 8. Plexo Epiescleral (PE) de cerdo con tinción de Gallego, se observa la abundancia de acúmulos de Pigmento (P) que rodean los Vasos (V), a 400 X.

marcada en el gato, vaca, cerdo, mono y hombre.

El epiescleral y subconjuntival está marcado en el tlacuache y conejo y sólo el plexo epiescleral está marcado en el perro.

El conjuntival sólo es bien definido en el tlacuache y conejo (Fig. 7).

El pigmento se dispone formando pequeños acúmulos que rodean los vasos del plexo escleral profundo en gato, vaca y hombre. A nivel del plexo epiescleral y subconjuntival el pigmento está en pequeños acúmulos en el tlacuache y cerdo (Fig. 8), o poco marcado en el





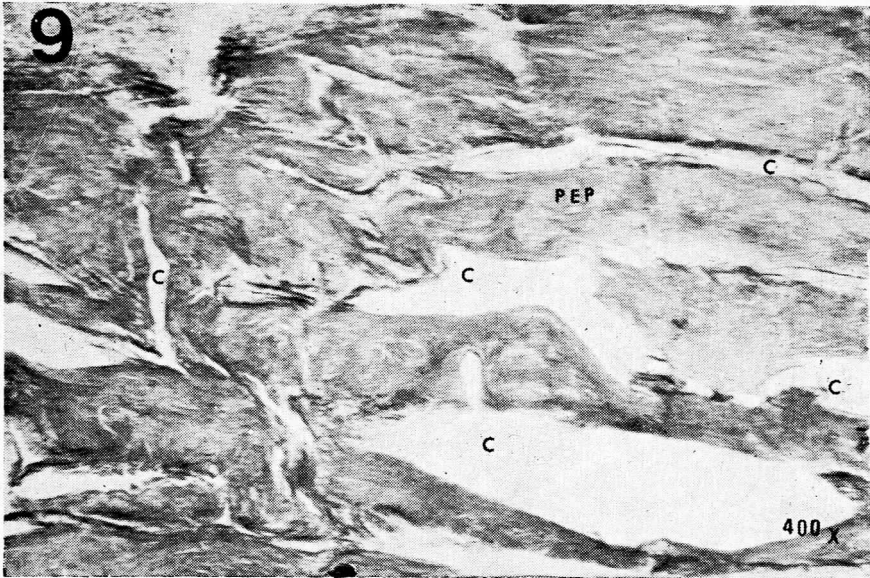


FIG. 9. Plexo Escleral Profundo (PEP) de perro, teñido con Gallego a 400 X. Con sus conductos que se ramifican (C) en varias direcciones, casi no se observan los acúmulos de pigmento a este nivel.

perro (Fig. 9). Y este pigmento en el conejo y mono se encuentra disperso en granulaciones en el plexo intra y epiescleral.

La extensión de estos plexos varía: en el caso del hombre, mono, tlacuache y perro abarca desde la parte posterior de la córnea hasta la altura donde terminan los procesos ciliares.

En el cerdo, conejo, gato y vaca abarcan desde el surco ciliar hasta donde principia la retina.

En ocasiones se encuentra algo de sangre en la luz de los vasos pero puede interpretarse como reflujos desde las venas subconjuntivales a nivel del límite del plexo epiescleral y subconjuntival en todas las especies estudiadas.

La morfología de los vasos de drenaje del seno acuoso angular se observa en el cuadro II.

Se encuentran vasos de luz amplia a nivel de los plexos escleral profundo, epiescleral y subconjuntival en el mono y hombre. A nivel del epiescleral y subconjuntival en conejo, gato, vaca, cerdo, y a nivel del plexo epiescleral en el tlacuache y perro (Fig. 10).

Los vasos de luz estrecha se observan en el escleral profundo, intraescleral y subconjuntival en tlacuache, en los dos primeros plexos en la vaca, en el plexo epiescleral en conejo, gato, mono y hombre. Y sólo hay en el intraescleral en el perro y cerdo.

Se encuentran más abundantes estos vasos en el plexo epiescleral en tla-

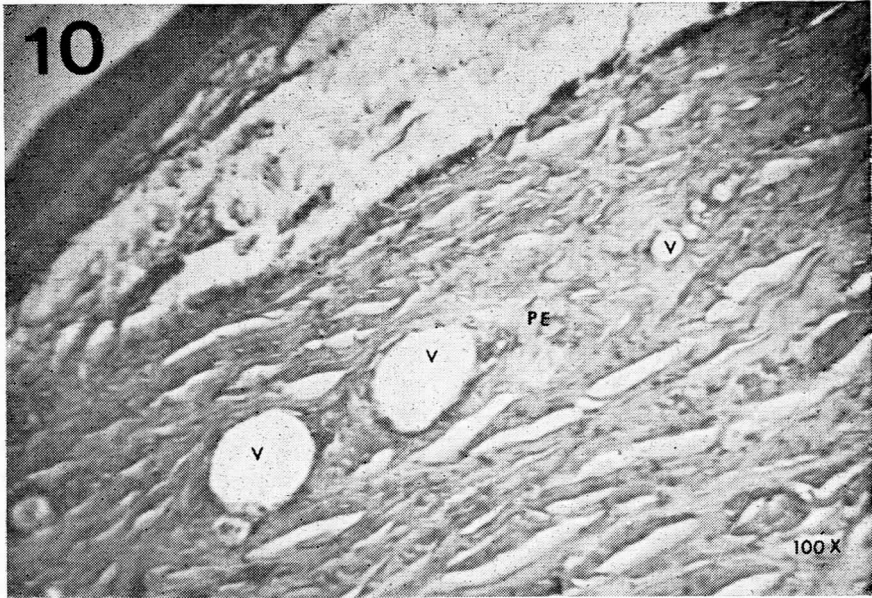


FIG. 10. Plexo epiescleral (PE) de vaca teñido con Gallego a 100 X, los vasos de luz amplia se observan muy bien definidos, el pigmento se encuentra disperso.

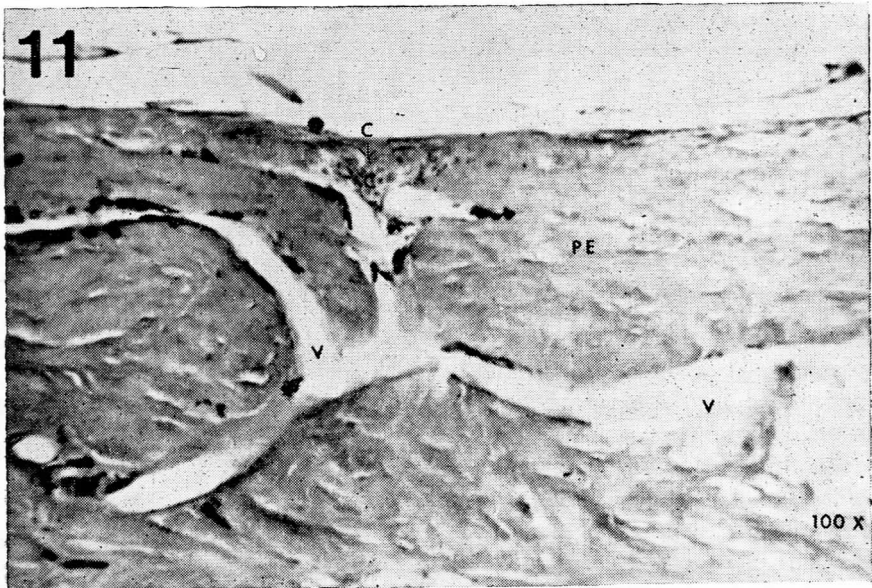


FIG. 11. Plexo Epiescleral (PE) en perro teñido con Masson a 100 X. Se observan los canales anastomosados y un cojín en la parte superior (C).

cuache, perro, gato y hombre. También son abundantes en el plexo escleral profundo en el cerdo y mono, y en el subconjuntival en el caso de la vaca.

Son poco abundantes en el intraescleral en la vaca, cerdo y mono, y en el hombre en el escleral profundo.

Los vasos más grandes se encuentran en la mayoría de los animales en el plexo epiescleral y subconjuntival.

La mayoría de los vasos pequeños están en el plexo intraescleral en todos los animales. Algunos se encuentran también en el escleral profundo, como es el caso del tlacuache y hombre.

Se observa que se anastomosan únicamente en el plexo epiescleral, en el conejo, perro, mono y hombre (Fig. 11).

## CONCLUSIONES

La morfología y características histológicas de los plexos esclerales del ojo en los diferentes mamíferos aquí estudiados, es muy similar al del humano, pues tienen las mismas estructuras y sólo varía en cuanto a la naturaleza plexiforme, estratificación de los plexos, cantidad y diámetro de los vasos.

Únicamente en el tlacuache, mono y hombre se observó el seno venoso escleral presente, pues en otros mamíferos inferiores no está representado. La distribución del pigmento en los plexos es muy variable en las diferentes especies. Se encuentra desde células pigmentarias dispersas hasta pequeños acúmulos de pigmento rodeando los vasos.

En la mayoría de los animales estudiados están bien representados los plexos epiescleral y subconjuntival y muy poco marcados el plexo escleral profundo e intraescleral.

## DISCUSION

Si no existe el seno venoso en los ojos de los mamíferos inferiores, se deduce que el mecanismo de drenaje del humor acuoso que va desde el orificio pupilar hasta las posibles rutas de drenaje de la capa endotelial que constituye la porción inicial del aparato de filtración en mamíferos, es por medio de micropinocitosis, vacuolización endotelial, poros finos u otro tipo de mecanismo que han sugerido también otros autores (Rohen, 1972; Kayes, 1967; Tripathi, 1972 y 1973), y que han observado en algunas aves y mamíferos.

Nos llamó la atención que en algunos grupos más primitivos, como es el grupo de los marsupiales, al que pertenece el tlacuache, comparten la mayoría de las estructuras con las del hombre, lo cual nos hace suponer que estas estructuras se forman en los mamíferos primitivos, por lo que sería conveniente hacer un estudio comparativo de estas estructuras en aves y reptiles.

## AGRADECIMIENTO

Agradecemos al Dr. Luis Cárdenas Ramírez por su valiosa asesoría, y a la señorita Beatriz Rodríguez Z. por la asesoría técnica.

## BIBLIOGRAFIA

1. Ashton, N.: Anatomical study of Schlemm canal and aqueous veins by means of neoprene casts. Part. I. Brit. J. Ophthalm. 35: 291-303, 1951.

2. *Ashton, N.*: Anatomical study of Schlemm's canal and aqueous veins by means of neoprene casts, II. *Brit. J. Ophthalm.*, *36*: 265-267, 1952.
3. *De Buen, S.*: Reglas para hacer el estudio macroscópico de los globos oculares. *Rev. Lat. Am. Anat. Pat.*, *2*: 163-167, 1958.
4. *De Buen, S.*: Contribución al conocimiento del plexo episcleral del ojo humano, del aparato de filtración. Su importancia en relación con el glaucoma. *Gac. Méd. Méx.*, *96*: 135-145, 1966.
5. *De Buen, S.*: El plexo episcleral. Estudio histológico en cortes tangenciales. *Escerta Med. Inter.* (Congress series No. 222 ophthalm. XXI International Congress Mex., 8-14 March), pp. 1521-1526, 1970.
6. *Ducke Elder, S.*: System of ophthalmology. The eye in evolution. (Henry Kimpton, London). *1*: 429-507, 1958.
7. *Francois, J.; Rabaeym y Neetens, A.*: Perfusion studies on the outflow of aqueous humor in human eyes. *A. M. A. Arch. Ophthalm.*, *55*: 193-204, 1956.
8. *Gaasterland, E. M.; Jackson, L. V. y Sears, L. M.*: Channels of aqueous outflow and related vessels. III. Episcleral arteriovenous anastomoses in the Rhesus monkey eye. *Arch. Ophthalm.*, *84*: 770, 1970.
9. *Kayes, J.*: Pore structure of the inner wall of Schlemm's canal. *Invest. Ophthalm.*, *3*: 381-394, 1967.
10. *Philip, A.; Wood y Narendra, K.*: Anterior chamber perfusion studies. *Amer. J. Ophthalm.*, *44*: 198-204, 1957.
11. *Rohen, J. W.*: New studies on the functional morphology of the trabecular meshwork and the outflow channels. *Trans. Ophthalm. Soc. United Kingdom*, *89*: 431-447, 1969.
12. *Rohen, J. y Rentsh, F. J.*: Uber den bau des Schlemmschen kanals und seiner abfuhrwege beim menschen. *Albert V, Graefes. Arch. Klin. Exp. Ophthalm.*, *184*: 29, 1972.
13. *Speakman, J. S.*: The structure of the trabecular meshwork in relation to the pathogenesis of open angle glaucoma. *Canadian M. A. J.*, *84*: 1066-1074, 1961.
14. *Tripathi, R. C.*: Mechanism of the aqueous outflow across the trabecular wall of Schlemm's canal. *Exp. Eye Res.*, *11*: 116-121, 1971.
15. *Tripathi, R. C.*: The mechanism of aqueous outflow in birds II. An ultrastructural study of perfused eyes. *Exp. Eye Res.*, *15*: 425-431, 1973.
16. *Tripathi, R. C. y Tripathi, B. J.*: The mechanism of aqueous outflow in birds I. An ultrastructural study of normal eyes. *Exp. Eye Res.*, *15*: 409-423, 1972.
17. *Unger, H. H. y Rohen, J.*: Bipsy of the trabecular meshwork. *Am. J. Ophthalm.*, *50*: 37-44, 1960.
18. *Worthen, D.*: Scanning electron microscopic study of the interior of Schlemm's canal in the human eye. *Am. J. Ophthalm.*, *74*: 35-40, 1972.

## CARACTERIZACION FUNCIONAL DE CELULAS DE LEYDIG DE POLLOS RECIEN NACIDOS EN CULTIVO CELULAR

Dr. M. Romano\*  
Dr. M. C. Aguilar\*  
Dr. M. González del Pliego\*  
Dr. E. Pedernera\*\*

### RESUMEN

La función de las células de Leydig, de pollo recién nacido, se estudió en modelo de cultivo celular en monocapa.

Se obtuvieron las células por disociación enzimaticomecánica. Se sembraron en cajas de plástico, observándose que a las 24 hrs. formaban una monocapa donde se destacaban grupos de células morfológicamente compatibles con células de Leydig. Estas mostraron riqueza en lípidos y positividad para la  $\Delta 5-3\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa. Las células de Leydig producen testosterona, que se midió a las 24 y 48 hrs. de cultivo. Cuando se agregó HGC al medio de cultivo se observó hipertrofia de los grupos de células de Leydig, disminución de los lípidos y un significativo aumento en la producción de testosterona.

### SUMMARY

The function of Leydig cells from newborn chick was studied in a monolayer cell culture.

Cells were dissociated by enzymatic-mechanical method and seeded in plastic dishes. At 24 hs. of culture a monolayer was observed. Groups with morphologic characteristics of Leydig cells were evident. They showed abundant lipids and were positive for  $\Delta 5-3\beta$ -hydroxysteroidhydrogenase. Testosterone production was measured at 24 and 48 hours of culture.

When HCG was added to the culture medium, hypertrophy of Leydig cells, with decreased lipid content was observed. Testosterone levels is significantly increased.

---

\* Departamento de Histología. Facultad de Medicina. UNAM, México.

\*\* Departamento de Embriología. Facultad de Medicina. UNAM, México.

## INTRODUCCION

El testículo cumple un importante rol en desarrollo prenatal a través de su influencia sobre la diferenciación de los órganos genitales. La producción *in vitro* de andrógenos por el testículo fetal ha sido demostrada utilizando diferentes técnicas de incubación y cultivo organotípico en fetos humanos (Abramovich y col., 1974), de conejo (George y col., 1978) y en embriones de pollo (Galli y Wassermann, 1972; Guichard y col., 1979).

Cuando las células de Leydig, de rata adulta, se cultivan en monocapa, muestran actividad de  $\Delta 5-3\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa previo estímulo *in vivo* con gonadotropina coriónica (HGC) (Steinberger y col., 1966). No existen comunicaciones sobre el cultivo en monocapa de células de Leydig, de testículo de pollo.

En el pollo recién nacido las células de Leydig representan aproximadamente el 40% de la población celular del testículo. Este hecho nos llevó a considerar al testículo de pollo, un modelo adecuado para obtener cultivos de células de Leydig. En dicho modelo estudiamos el comportamiento de las mismas en condiciones basales y con el estímulo de HGC.

## MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron pollos recién nacidos, de la línea Rhode Island. Los animales se sacrificaron dentro de las primeras 24 horas de su nacimiento y se extrajeron ambos testículos. La cápsula testicular

se quitó por disección, previa incubación en tripsina al 0.25% en solución salina balanceada libre de  $Ca^{++}$  y  $Mg^{++}$ . El tejido se cortó en pequeños trazos y se incubó nuevamente durante 20 minutos en tripsina a la misma concentración, obteniéndose una suspensión celular que fue lavada tres veces en solución salina balanceada. La disociación celular se completó mecánicamente por pasaje a través de pipetas de calibre decreciente. La viabilidad celular se controló utilizando nigrosina para la prueba de exclusión de colorante. La suspensión se cuantificó en una cámara hematocitométrica. Alíquotas de la suspensión se sembraron en cajas de Petri plásticas de 35 mm. de diámetro. Como medio de cultivo se utilizó: medio de Dulbecco 90%, suero bovino fetal 10% con penicilina y estreptomycinina a 500 U/ml. y 500  $\mu$ gr/ml. respectivamente. Los cultivos se mantuvieron a 37°C en una atmósfera de 5% de  $CO_2$  y 95% de aire.

A las 24 y 48 hs. se recogió el medio de cultivo para la cuantificación de testosterona por radioinmunoensayo (RIA). Las muestras se extrajeron con éter. En el ensayo se utilizó antitestosterona de conejo contra  $7\alpha$ -ASB testosterona (Miles Yeda, Ltd).

A las 72 hs. de cultivo se realizó la histoquímica de la  $\Delta 5-3\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa sobre la monocapa de células (Burden y Lawrence, 1977).

En un grupo de cultivos se efectuaron tinciones para lípidos con rojo Sudan, contrastando los núcleos con hematoxilina.

## RESULTADOS

La viabilidad celular obtenida luego del tratamiento con tripsina fue del 95 % aproximadamente.

Veinticuatro horas después de sembradas las células, se formó una monocapa que cubría completamente la superficie de la caja. Con microscopía óptica, se observaron acúmulos de células separados entre sí por espacios pequeños; en el resto de la caja, células con citoplasma ampliamente extendido, las cuales corresponden a las características de los fibroblastos.

En los acúmulos mencionados se encuentran células con morfología de células de Leydig, núcleos de cara abierta, predominantemente ovoides, con uno o varios nucleolos prominentes, límites celulares mal definidos, con inclusiones lipídicas en el citoplasma que se ven como gotas de varios tamaños que se tiñen con rojo Sudan. Algunas células de Leydig, con mayor cantidad de citoplasma, claro, estelar, se encuentran en la superficie de los acúmulos antes descritos e incluso en el tejido entre ellos; presentan también inclusiones lipídicas (Fig. 1).

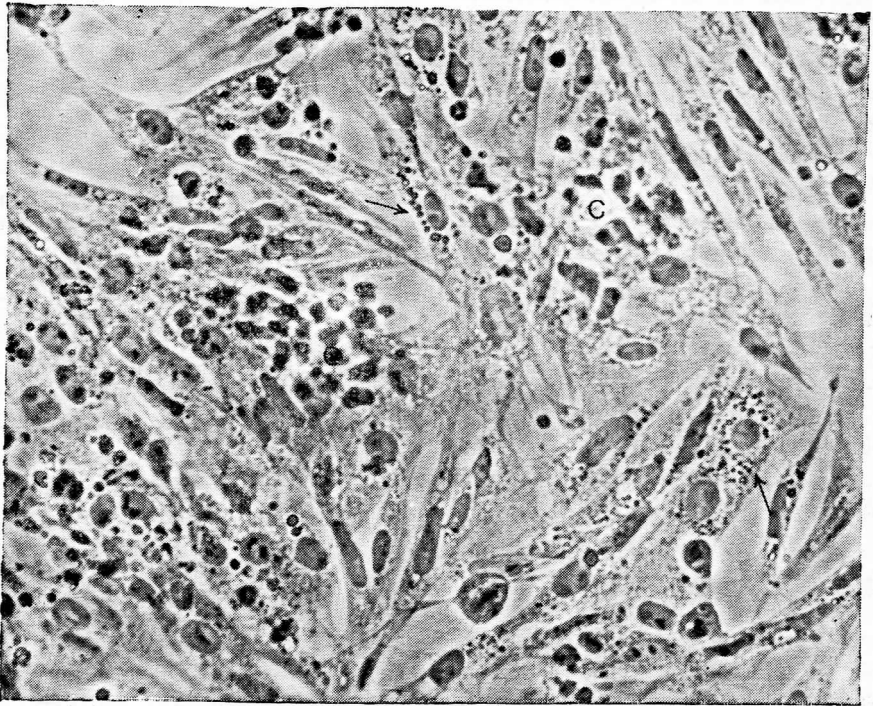


FIG. 1. Células de testículo de pollo cultivadas durante 48 horas. Grupo de células de Leydig con vacuolas lipídicas (flecha) en el citoplasma. Se observan también grupos de células de los cordones seminíferos (c). 280  $\times$ .



En la región central de los acúmulos se hallan células de morfología diferente a la de las de Leydig, con núcleos pequeños, esféricos y con gruesos grumos de cromatina, el citoplasma es escaso, ligeramente basófilo y presenta inclusiones de lípidos (Fig. 1).

Cuando se agrega HGC al cultivo se observa hipertrofia de las células de Leydig, que ocupan entonces un área mayor, con un citoplasma más extendido, en el que sin embargo se hace evidente una disminución en la cantidad de lípidos.

Se encuentran además algunas figuras de mitosis, principalmente en el tejido entre los acúmulos.

tanto la reacción limitada al citoplasma de las células de Leydig. Cuando se agregó HGC al medio de cultivo se encontró un aumento de la deposición de formazan sobre los islotes hipertróficos de células de Leydig.

Las células disociadas y cultivadas del testículo del pollo recién nacido son capaces de segregar importantes cantidades de testosterona a las 24 hs. de cultivo. A las 48 hs. continúan segregando hormona, aunque en menos cantidad. Cuando las células son estimuladas con HGC en el medio de cultivo, responden con un significativo incremento de la producción de testosterona (Tabla 1).

Tabla I

PRODUCCION DE TESTOSTERONA (PG/ML/10<sup>6</sup> CELULAS) POR LAS CELULAS DE LEYDIG DE POLLOS RECIEN NACIDOS EN CULTIVO

Grupos	n	Tiempo de cultivo	
		24 horas	48 horas
Testigos	6	14.78 ± 2.16	7.18 ± 1.16
Tratados con HGC 2 ui/ml.	6	96.77 ± 7.27 p < 0.01	20.37 ± 1.82 p < 0.01

Los valores representan la media ± error estandar de la media.  
Análisis estadístico prueba t de Student.

La histoquímica de la  $\Delta 5$ -3 $\beta$ -hidroxi-esteroide deshidrogenasa, en las cajas de cultivo, mostró que las células de los acúmulos presentan positividad para la enzima en la forma de gránulos azules de formazan. Los controles, que no tenían sustrato durante la incubación, fueron negativos.

Los espacios entre los islotes son, en su mayor parte, negativos, así como los núcleos celulares, encontrándose por lo

## DISCUSION

Los resultados expuestos demuestran que las células disociadas del pollo recién nacido pueden ser cultivadas en monocapa, manteniendo las células de Leydig su actividad funcional.

Las características morfológicas de las células de los acúmulos son compatibles con las células de Leydig. Son ricas en lípidos y se depletan de los mismos

cuando se incrementa su funcionamiento estimulándolas con HGC. Sobre ellas se depositan gránulos de formazan cuando se efectúa la reacción histoquímica, y dado que la  $\Delta 5-3\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa es una enzima que interviene en diferentes etapas de la biosíntesis de las hormonas esteroides, podemos concluir que se trata de células involucradas en esta actividad. El hecho de que los núcleos no den reacción positiva, como tampoco la mayoría de las células fuera de los islotes, y que, en cambio, el citoplasma de las postuladas células de Leydig revele la presencia *in situ* de la enzima a través del depósito de formazan, indica que los resultados obtenidos son específicos. Más aún, la intensidad de la reacción en los islotes aumenta cuando las células son estimuladas con HGC indicando otra vez la naturaleza esteroideogénica de las mismas.

Las células que se encuentran en el centro de los acúmulos, de caracteres morfológicos distintos de las células de Leydig, podrían corresponder a células tubulares. Este punto será motivo de estudios posteriores.

Los resultados obtenidos, indican que las células de Leydig cultivadas en monocapa aumentan la producción de testosterona en presencia de HGC en el medio de cultivo, sugiriendo que poseen los receptores y la organización

básica necesaria para responder al estímulo hormonal. Estos resultados coinciden con los de Guichard y col. (1979), quienes observan respuestas a la HGC en cultivo organotípico de embriones de pollo de 18 días.

#### AGRADECIMIENTO

Los autores desean agradecer a la señorita María del Carmen Méndez H. su valiosa colaboración técnica en la realización del presente trabajo.

#### BIBLIOGRAFIA

1. *Abramovich, D. R.; Baker, T. G. y Neal, P.*: Effect of human chorionic gonadotrophin on testosterone secretion by foetal human testis in organ culture. *J. Endocr.*, 60: 179-185, 1974.
2. *Burden, H. W. y Lawrence, I. E. Jr.*: The effects of denervation on the localization of  $\Delta 5-3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase activity in the rat ovary during pregnancy. *Acta Anat.*, 97: 286-290, 1977.
3. *Galli, F. y Wassermann, G. F.*: Steroid biosynthesis by testes and ovaries of 15-day-old chick embryos. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 19: 509-514, 1972.
4. *George, F. W.; Catt, K. J.; Neaves, W. B. y Wilson, J. D.*: Studies on the regulation of testosterone synthesis in the fetal rabbit testis. *Endocrinology*, 102: 665-673, 1978.
5. *Guichard, A.; Haffen, K.; Cedard, L.; Mignot, T. M. y Scheib, D.*: Effects of hCG and of season on *in vitro* steroidogenesis by 18-day chick embryo gonads. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 19: 1317-1325, 1979.
6. *Steinberger, E.; Steinberger, A. y Vilar, O.*: Cytochemical study of  $\Delta 5-3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase in testicular cells grown *in vitro*. *Endocrinology*, 79: 406-410, 1966.

## **ROLE OF LYMPHATIC VESSELS IN THE DEFENSE MECHANISM OF THE LUNG OF THE CALF**

**Dr. Miguel A. Galina Hidalgo, M.V.Z., M.S., Ph.D.\***  
**Dr. Robert A. Kainer, D.M.V., M.S.\*\***

### **SUMMARY**

An investigation was conducted to determine the removal of intrabronchially instilled carbon and ferritin particles from the lungs of calves. In the alveolar lumen, carbon and ferritin particles were phagocytosed primarily by macrophages and secondarily by neutrophils. Alveolar epithelial cells were connected by tight junctions which, depending on their permanence, could impede the movement of particles, suggesting that the particles reach the interstitial tissues primarily by a transcellular route as well as by possible transport in macrophages. Phagocytes of debatable origin in the perilymphatic-vascular connective tissue contained particles of ferritin and carbon. The tracer particles were present in lymphatic vessels a short time following their intrabronchial instillation. The main passages into lymphatic vessels were intercellular spaces between endothelial cells. The spaces served as inlet valves that were anchored by filaments and controlled by smooth muscle cells. Blood capillaries did not take up tracer particles. Many particles were retained within terminal bronchioles to be removed by mucociliary activity.

### **RESUMEN**

Se realizó una investigación con el objeto de determinar (experimentalmente) como se remueven las partículas de ferritina y carbón inyectadas intratraquealmente en pulmones de becerros. En el lumen alveolar, las partículas de carbón y ferritina fueron fagocitadas primariamente por macrófagos y secundariamente por neutrófilos. Las células epiteliales alveolares están unidas mediante uniones fuertes, las cuales pueden impedir el movimiento de partículas dependiendo de su integridad, lo cual sugiere que las partículas llegan al tejido intersticial, principalmente por vía transcelular y también, posiblemente, transportadas por macrófagos.

---

\* Escuela Nacional de Estudios Profesionales. Universidad Nacional Autónoma de México. Cuautitlán, México.

\*\* Colorado State University. Fort Collins, Colorado, U.S.A.

Macrófagos de origen discutible en el tejido conectivo perilinfático-vascular, contenían partículas de ferritina y carbón, las partículas inyectadas estuvieron presentes en los vasos linfáticos rápidamente después de su instilación. El principal paso de las partículas hacia el lumen del vaso linfático, fue a través del espacio entre las células endoteliales del mismo. Este espacio actúa como una válvula de entrada anclada por filamentos y controlada por las células musculares lisas. Los capilares sanguíneos no presentaron partículas de carbón o ferritina. Muchas de estas partículas fueron retenidas en los bronquiolos terminales y removidos mediante actividad mucociliar.

## INTRODUCTION

The role of pulmonary alveolar epithelial cells in the uptake of instilled ferritin or carbon particles has been documented with contradictory observations.<sup>1, 10</sup> In one investigation, only the type II<sup>9</sup> granular pneumocyte took up the tracer particles.<sup>23</sup> That these cells are capable of phagocytosis has been demonstrated by "in vitro" experiments.<sup>15</sup> In other investigations, only the type I membranous pneumocytes were capable of phagocytosis,<sup>1, 13</sup> while still other authors<sup>8, 22, 30</sup> claimed that neither of the alveolar cell types took tracer particles into their cytoplasm.

In one investigation, tracer particles were demonstrated in both types of pneumocytes in the alveoli of rabbits' lungs.<sup>18</sup> The observations suggested that, after intrabronchial instillation of ferritin, the type I pneumocyte contained numerous vesicles. Such vesicles were not observed in the normal, lapine membranous pneumocyte.<sup>16</sup> Following intrabronchial instillation of ferritin, type II pneumocytes took up the ferritin mainly by phagocytosis and only to a smaller extent by micropinocytosis.<sup>18</sup> Results from the instillation of carbon indicated a small uptake of particles by both

types of alveolar pneumocytes in the rabbit. Practically no carbon was seen in micropinocytotic vesicles.

The induced phagocytic activity of the type I pneumocyte was probably also the cause of the occasional occurrence of osmiophilic lamellar material intermingled with tracer particles.<sup>7, 18</sup> Other investigators considered the presence of lamellar bodies in type I cells to be morphologic evidence for transformation to type II pneumocytes.<sup>8</sup> Uptake of tracer particles by type II pneumocytes was suggested by the deep invaginations in the cells' luminal side which contained both osmiophilic lamellar bodies and tracer particles.<sup>18</sup>

Following transcellular epithelial transport, ferritin particles migrated through the basal lamina and into the perialveolar connective tissue. Carbon particles appeared to migrate less readily through the basal lamina into the connective tissues.<sup>18</sup> A negative hydrostatic pressure gradient in the perialveolar connective tissue has been reported.<sup>28</sup>

In a different study there was no clear directional transport, and it was implied that endocytotic vesicles move at random throughout the cytoplasm.<sup>3</sup>

The relatively numerous particles observed in the lymphatic vessels after intrabronchial instillation in the rabbit lung<sup>18</sup> and the dilatation of the lymph vessels in the inflammatory response<sup>14</sup> illustrated the important role played by these vessels in the clearance of pulmonary alveoli.<sup>11</sup> These spaces have been considered as valves that close intermittently following the passage of material.<sup>6</sup>

Ferritin particles were observed within secondary lysosomes in the endothelial cells of pulmonary lymphatic vessels where they were subject to digestion.<sup>4</sup> The reports of other investigations indicated that transcellular transport took place through lymphatic vessels.<sup>19 20</sup>

The structure of interalveolar blood capillaries with their continuous basal lamina and numerous maculae occludentes were much less adapted to the uptake and removal of particles.<sup>24</sup> There was no morphologic evidence of phagocytosis, and ferritin particles were present in only a few micropinocytotic vesicles, indicating an inefficient uptake by the endothelial cells of the interalveolar blood capillaries.<sup>18</sup> Some of the vesicles may have fused with lysosomes.<sup>2</sup> Also, particles present in the alveolar lumen could be removed via the conducting airways due to the presumed continuity of the alveolar-bronchial fluid film.<sup>10</sup>

## MATERIAL AND METHODS

Experimental pulmonary tracing studies were conducted on 12 calves (10

Herefords and 2 Holstein-Friesians) from 3 days to 8 weeks of age. The tracing studies were conducted at light and electron microscopic levels.

Each calf was examined clinically for pulmonary disorders prior to the experiments. The animals were anesthetized by the intravenous injection of sodium pentobarbital (32 mg/kg body weight) or ketamine (10 mg/kg body weight). A tracheotomy was performed, an intratracheal cannula positioned, and a small urethral catheter inserted gently through the cannula. The catheter was conducted down the bronchi of either the right or left lung until it lodged.

There were 2 experimental groups. The 2 calves in the first group were 3 and 5 days old and weighed 45 and 50 kg respectively. A suspension of 300 mg of ferritin in 10 ml of physiological saline solution was instilled intrabronchially and then further forced by the injection of 20 ml of air into the catheter. One calf was killed after 1 hour, the other, after an interval of 2 hours. Lateral recumbency was changed each half hour. At the end of the time interval, the depth of anesthesia was increased by the intravenous injection of 320 mg of sodium pentobarbital. The calves were killed by the perfusion of 4% glutaraldehyde cacodylate-buffered solution (pH 7.2) through the trachea into the lungs.

The second group consisted of 10 calves prepared in the same manner as those in the ferritin group. The calves' weights ranged from 35 to 100 kg, and the ages from 8 days to 8 weeks.

Lungs of the calves in this group were instilled intrabronchially with 20 to 30 ml. of a solution of india ink carbon particles (Pelikan) and killed at intervals of 1, 1.5, 2, 4, 6, 16 and 48 hours. They were anesthetized and killed by the perfusion technique described for the ferritin group.

In both experimental groups the thoracic cavity was exposed and the end of the catheter was located by careful dissection of the lung. Regional lymph nodes which received afferent lymph vessels from affected parts of the lung were collected for light and electron microscopic studies.

Samples from the catheterized lungs adjacent to the tip of the catheter were obtained for observations of movement of the tracer particles; samples from contralateral lungs served as controls. Samples used for light microscopic observation were further fixed by immersion in 10% buffered formalin solution for several hours, processed by the routine paraffin-plastic method, sectioned at 6 microns, and stained by the hematoxylin-phloxine-safran method. Observations on the sections were recorded photographically with a Zeiss photomicroscope.

Samples for electron microscopy were minced into pieces approximately 10 mm<sup>3</sup> and fixed for 2 hours in 4% glutaraldehyde/5% sodium cacodylate solution (pH 7.2) at room temperature. Secondary fixation of the samples was accomplished by immersion for 1 hour in a 1% osmium tetroxide/5% sodium cacodylate solution (pH 7.2) at room

temperature. The samples were rinsed in 5% solution cacodylate solution overnight. The small pieces of lung were always sectioned with a lymphatic vessel in the center for orientation. Sections 100 microns thick were made with a razor blade in a vibrotome and observed in a light microscope to ensure the presence of lymphatic vessels. The 100-micron sections were dehydrated in a series of graded alcohols at 10-minute intervals, placed in propylene oxide for 10 minutes, changed into a 50 - 50 mixture of propylene oxide-Epon 812. The preparations were polymerized for 6 hours at 60°C. The partially polymerized specimens were set on the tips of capsules containing Epon 812 and fully polymerized.

The polymerized specimens were sectioned to obtain silver-colored ribbons on a LKB Ultratome using a glass knife. These sections were mounted on a copper grid, stained with uranyl acetate and lead citrate, and observed in a Zeiss EM9A or Hitachi HS-8 electron microscope. As a control for the tracer studies, unstained sections were examined.

Specimens for scanning electron microscopy were not fixed secondarily in osmium tetroxide. Otherwise the fixation procedure was similar. Fixed samples 1 x 1 x 0.5 mm. were actioned, dehydrated in graded solutions of acetone followed by graded solutions of Freon TF 113 (Dupont) and critically dried with Freon 13 (Dupont). Dried specimens were mounted on aluminum stubs, double coated with carbon and gold and ob-

served in an Hitachi HHS2R scanning electron microscope.

RESULTS

Thirty minutes after the intrabronchial instillation of ferritin or carbon particles, a marked dilatation of pulmonary septal lymph vessels was observed (Fig. 1). Ferritin particles were observed in the lumina of the lymphatic vessels 1 hour after instillation (Fig. 1). Two hours elapsed before carbon particles appeared in the lumina of the lymphatic vessels (Fig. 1).

Two hours following intrabronchial instillation, carbon particles were observed in the perivascular connective tissue around septal lymphatic vessels (Fig. 2). Carbon particles appeared in aggregates within cells which resembled alveolar macrophages (Fig. 3). The number of alveolar macrophages increased

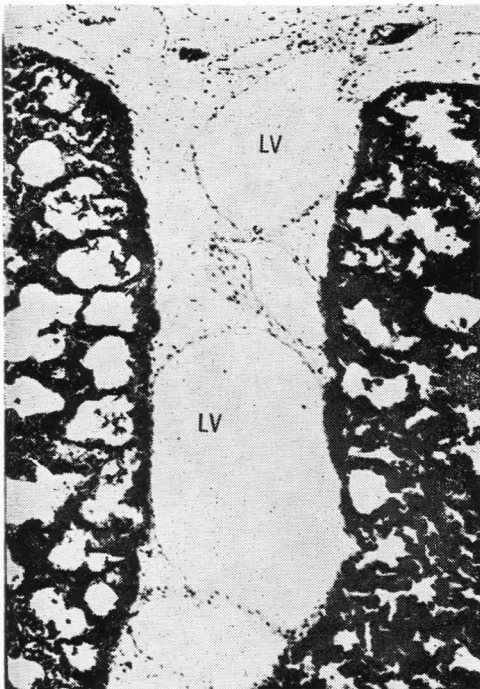


FIG. 1. Photomicrograph of a pulmonary lymph vessel (LV) 30 minutes after carbon instillation into a major bronchus note the dilatation of the lymph vessel  $\times 25$ .

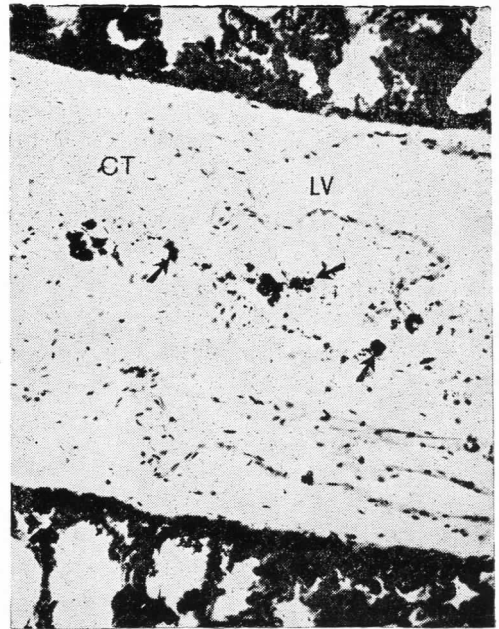
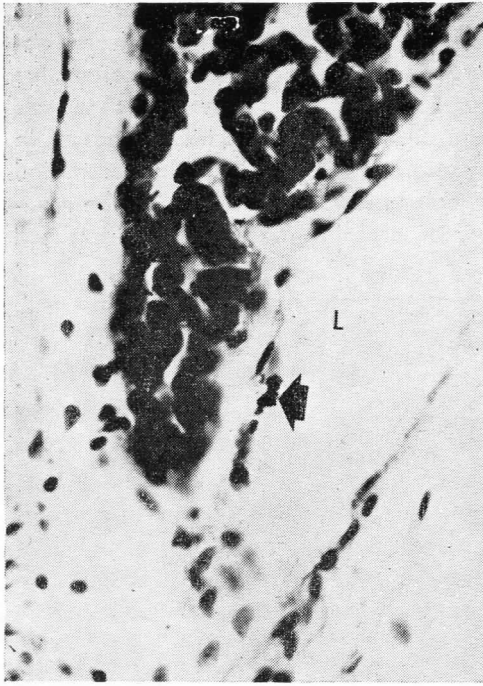


FIG. 2. Photomicrograph 2 hours after intrabronchial instillation of carbon particles. Note carbon particles (arrows) in the septal connective tissue (CT)  $\times 40$ .

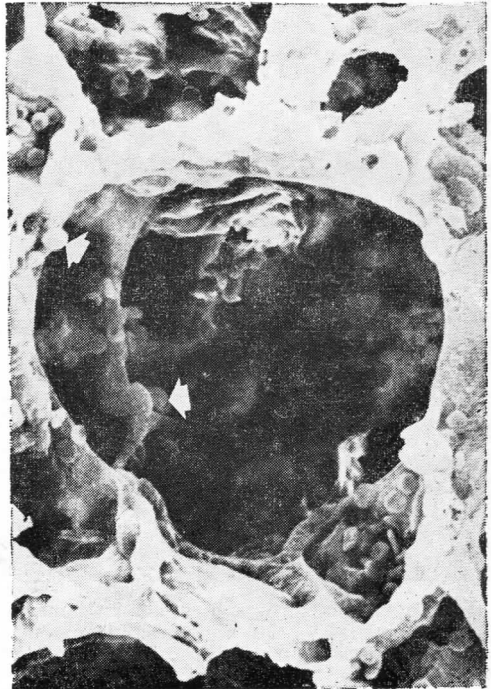
quickly with time, so that after 16 hours, numerous macrophages were observed within alveoli and alveolar septa and walls (Fig. 4).

Two hours after intrabronchial instillation, carbon particles appeared in the lumina of lymphatic vessels, indicating



←

FIG. 3. Photomicrograph of an alveolar macrophage (arrow) containing carbon particles in the lymph vessel (L) 4 hours after intrabronchial instillation of carbon. The macrophage appears to be attached to the lymph vessel wall  $\times 63$ .



→

FIG. 4. Scanning electron micrograph of the pulmonary alveoli (AL) 2 hours after intrabronchial instillation of carbon, note the abundance of alveolar macrophage (arrow)  $\times 1000$ .



their rapid transport from the alveolar lumen through the alveolar epithelium, perialveolar connective tissue and the endothelium of the lymphatic vessels (Fig. 5). The cytoplasm of membranous pneumocytes was swollen markedly 2 hours after intrabronchial instillation of ferritin an 6 hours after instillation of carbon (Fig. 6). Granular (type II) pneumocytes were edematous also (Fig. 7). Ferritin could not be distinguished in the cytoplasm from the characteristic osmiophilic inclusions in granular pneu-

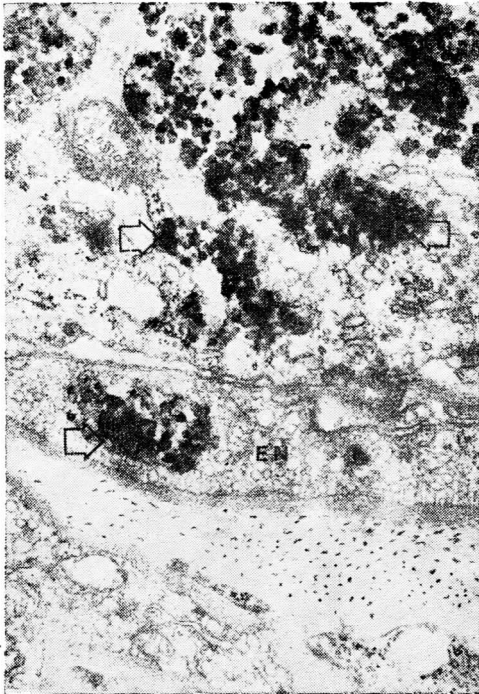
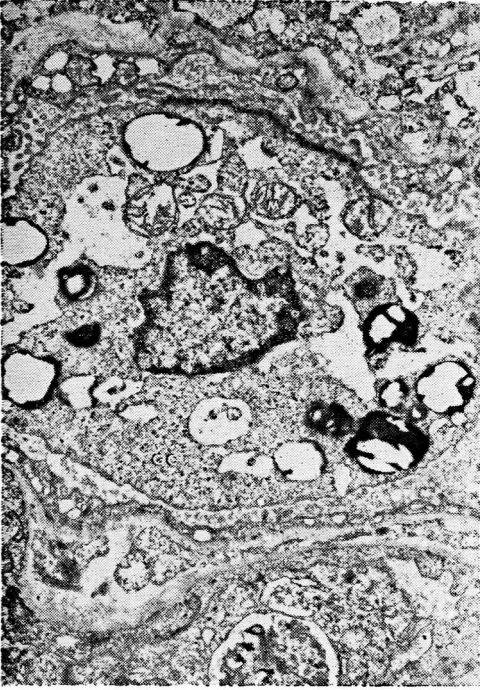


FIG. 5. Electron micrograph of a pulmonary lymph vessel filled with carbon particles (open arrow) in the lumen. Note some carbon particles in the cytoplasm of the lymph vessel endothelial cell (EN) 2 hours after carbon instillation  $\times 52,975$ .



FIG. 6. Electron micrograph of a membranous pneumocyte (SC) 2 hours after intrabronchial instillation of ferritin. The ferritin particles (solid arrow) are observed in the alveolar lumen (AL). The nucleus (N) is in the thick portion of the cytoplasm  $\times 41,650$ .

mocytes, since their electron density was the same (Fig. 9). In the carbon tracer experiment, granular pneumocytes frequently contained carbon particles associated with lamellar osmiophilic bodies. A homogeneous distribution of tracer particles, especially ferritin, was observed adjacent to and within the basal lamina of the alveolar epithelium. Carbon particles were observed frequently free in the perialveolar interstitium (Fig. 6). Although carbon particles were seen often in the lumina of lymphatic vessels,



←

FIG. 7. Electron micrograph of a granular pneumocyte (GC) with marked edema. Distended mitochondria (M) are evident.  $\times 20,250$ .



→

FIG. 8. Electron micrograph of a granular pneumocyte 2 hours after intrabronchial instillation of ferritin. Note the cellular edema in the pneumocyte.  $\times 20,250$ .

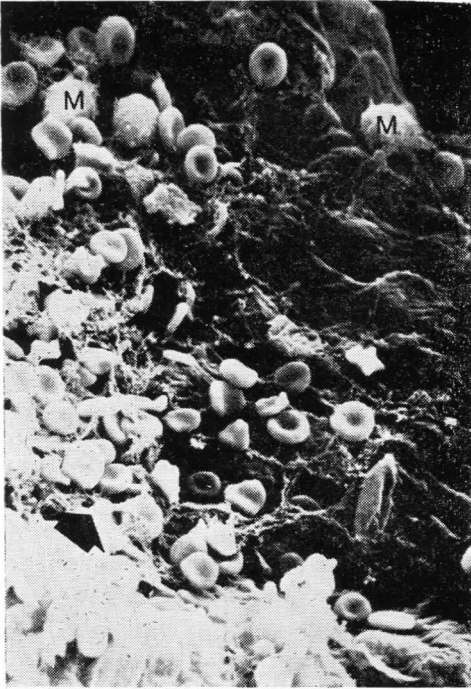


FIG. 9. Scanning electron micrograph of a pulmonary deep lymph vessel 6 hours after intrabronchial instillation of carbon. Note the macrophage (M) and the fibrin mesh (arrow) attached to the wall of the lymph vessel.  $\times 1,000$ .

they were not observed in intracytoplasmic vesicles of the endothelial cells.

After 6 hours, carbon particles appeared in the tracheobronchial lymph nodes. Sixteen hours after intrabronchial instillation, carbon particles reached the mediastinal lymph nodes.

Scanning electron microscopic observations revealed that, six hours intrabronchial instillation of carbon particles, they were present in lymphatic vessels in company with erythrocytes and leukocytes. Erythrocytes were attached to

the vessels walls by fibrin networks (thrombi) that also contained macrophages (Fig. 9). Carbon particles were associated with the surfaces of the macrophages, presumably cells of alveolar origin. Frequently, macrophages were attached to the walls of lymphatic vessels (Fig. 10).

Masses of the tracer particles were observed routinely within the terminal conducting airways due to the action of the mucociliary apparatus. Carbon particles were not taken up by the epithelial cells lining the airways.

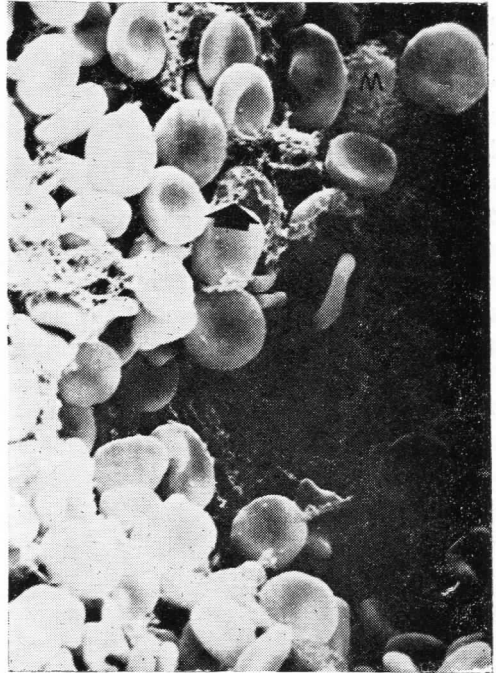


FIG. 10. Scanning electron micrograph of the lumen of a pulmonary lymph vessel 4 hours after intrabronchial instillation of carbon particles. Note the fibrin (arrow) surrounding the mesh of alveolar macrophages (M) and carbon particles  $\times 3,000$ .

## DISCUSSION

Alveolar macrophages were reported to be scarce in the bovine lung.<sup>24</sup> In the lungs of rabbits instilled with tracer particles, they increased in number.<sup>18</sup> Following the intrabronchial instillation of ferritin or carbon particles into the lungs of calves, aggregation of macrophages was observed in pulmonary alveoli. The possible removal of some alveolar macrophages via the lymphatic system was suggested by the experiments with intrabronchial instillation of carbon and ferritin in rabbits.<sup>18</sup> In similar tracer studies in the present investigation of the bovine lung, cells containing large amounts of tracer particles were observed in the lumina of pulmonary lymphatic vessels. These cells could be either alveolar macrophages or connective tissue macrophages. The relatively low concentration of free carbon particles within the connective tissue compartment contrasted with the large quantity of particles present in macrophages, suggesting their alveolar origin. While the passage of such cells through the alveolar epithelium was not observed with the light microscope or the electron microscope, macrophages were observed in the alveolar wall with the scanning electron microscope.

In agreement with Shea and Karnovsky,<sup>27</sup> morphophysiological changes in the bovine alveolar epithelium indicated that tracer particles can reach the interstitial tissue via a transcellular route. Carbon and ferritin uptake was demonstrated in both types of pneumocytes. Irregular vesicles occurred in membra-

nous pneumocytes following the instillation of ferritin. This is in accord with the report of Lauweryns and Beart.<sup>18</sup> The most conspicuous change in the present study was the cellular edema in the granular pneumocyte shortly after the instillation of either ferritin or carbon. Large vesicles were observed inside lamellar bodies that also contained electron-dense material following ferritin instillation in the bovine lung. Similar observations were made in the granular pneumocytes of the rabbit lung<sup>18</sup> and the mouse lung.<sup>26</sup> However, in the present investigation such electron-dense material was interpreted as artifact due to the destruction of the architecture of the lamellar bodies during fixation as suggested by Gil and Weibel.<sup>9</sup>

It was concluded that, in the rabbit lung, phagocytosis was induced more rapidly by the presence of ferritin than by carbon.<sup>18</sup> In the lung of the calf, vacuoles first appeared in the alveolar epithelial cells 1 hour after the intrabronchial instillation of ferritin and 2 hours after the instillation of carbon. The particles apparently moved through the cell in vacuoles

Following transcellular alveolar epithelial transport, the free particles migrated through the basal lamina and into the connective tissue of the interstitium. Due to their larger size, carbon particles apparently moved at a slower velocity, reaching the perilymphatic connective tissue in 2 to 4 hours in contrast to 1 hour for ferritin particles. Differential movement of tissue fluid was evidently responsible for the movement of

particles through the interstitium in the direction of lymphatic vessels.<sup>12, 31</sup> This phenomenon would explain the rapid dilatation of the lymphatic vessels of the bovine lung 30 minutes after the intrabronchial instillation of tracer particles.

The relatively numerous tracer particles that were observed in the lumina of pulmonary lymphatic vessels a short time after their intrabronchial instillation in calves indicate a functional role played by lymphatic endothelial cells in the lungs of rabbits and man.<sup>18</sup> These connections were considered to open intermittently, serving as valves for the passage of particles.<sup>3, 6</sup> Gap junctions were not identified between lymphatic endothelial cells in the bovine lung, but desmosomal attachments and intercellular spaces were observed. Also, contrary to a report of micropinocytotic transport of ferritin by these cells in the rabbit lung, ferritin was not observed directly within lymphatic endothelial cells in the calf. There was, however, an increase in the number of micropinocytotic vesicles in the endothelial cells of lymphatic vessels in the lungs of calves instilled with ferritin.

Blood capillaries were of no significance in the removal of tracer particles. A well defined, continuous basal lamina and numerous tight junctions are much less adapted to the uptake of particles, and the blood-air barrier, although freely permeable to water and ions, was considered impermeable to proteins.<sup>5, 29</sup> Carbon particles were never observed and ferritin particles observed only occa-

sionally along the tight junctions of bovine pulmonary blood capillaries. Similar observations were made in the lapine lung.<sup>18</sup> Neither ferritin nor carbon particles were observed within blood capillaries of the bovine lung.

In the lungs of calves that were subjected to the intrabronchial instillation of tracer particles, the mucociliary apparatus trapped masses of particles for subsequent removal by mucous flow as described by Litt.<sup>21</sup>

#### BIBLIOGRAFIA

1. *Bensch, K. G., E. A. Domínguez, E. Meyer and A. A.: Leibow Studies on the pulmonary air-tissue barrier absorption of macromolecules by the alveolar wall. Am. Rev. Resp. Dis. 101: 439-444, 1970.*
2. *Bensch, K. and E. Domínguez: Studies in the pulmonary air-tissue barrier part IV Cytochemical tracing. Yale, J. Biol. Med. 43: 236-241, 1971.*
3. *Casley-Smith, J. R.: An electron microcopy study of injured and abnormally permeable lymphatics. Ann. N. Y. Acad. Sci. 116: 803-830, 1964.*
4. *Casley-Smith, J. R.: Endothelial permeability. II. The passage of particles through the lymphatic endothelium of normal and injured ears. Brit. J. Exp. Path. 46: 35-49, 1965.*
5. *Chinard, F. P., T. Emms and M. F. Nolan: Permeability characteristics of the alveolar-capillary barrier. Trans. Ass. Am. Physiol. 75: 253-261, 1962.*
6. *Curtis, F. S.: Lymph and plasma protein barriers to their movement throughout the extracellular fluid. Lymphology. 1: 9-17, 1971.*
7. *Epling, G. P.: Electron microscopy of the bovine lung: lattice and lamellar structures in the alveolar lumen. Am. J. Vet. Res 25: 1424-1430, 1964.*
8. *Faulkner, C. S. and Esterly, J. R.: Phagocytosis in the lung: distinction between granular pneumocyte and the macrophage. Am. J. Path. 55: 43-44a, 1969.*
9. *Gil, J. and Weibel, E. R.: The role of the buffers in lung fixation with glutaraldehyde and osmium tetroxide. J. Ultrastr. Res. 25: 331-348, 1968.*

10. Green, H. S. and Casley-Smith, J. R.: Calculation on the passage of small vesicles across endothelial cells by brownian motion. *J. Theor. Biol.* 35: 103-111, 1972.
11. Green, C.: Alveolobronchial transport mechanism. *Arch. Int. Med.* 131: 109-114, 1973.
12. Hall, J. and Woolley, G.: Intrinsic rhythmic propulsion of lymph in the unanesthetized sheep. *J. Physiol.* 180: 336-432, 1965.
13. Hapke, E. J. and Pederson, H. J.: Cytoplasmic activity in type I pulmonary epithelial cells induced by macro aggregates of albumin. *Science* 161: 580-582, 1968.
14. Jubb, K. V. and Kennedy, P. C.: Pathology of the domestic animals. Acad. Press. New York, 1970.
15. Ladman, A. J. and Finley, T. N.: Electron microscopic observations of pulmonary surfactant and the cell which produces it. *Anat. Rec.* 164: 372-383, 1966.
16. Lauweryns, J. M.: The lymphatic vessels of the neonatal rabbit lung. *Acta Anat. (Basel)*. 63: 433-437, 1966.
17. Lauweryns, J. M., Deleersnyder M. and Boussauw, L.: The body lymphatics in neonatal hyaline membrane disease. *Pediatrics*. 44: 126-128, 1969.
18. Lauweryns, J. M. and Beart, J. H.: The role of the pulmonary lymphatics in the defense of the distal lung. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 221: 244-275, 1974.
19. Leak, L. V.: Electron microscopic observation of lymphatic capillaries and the structural components of the connective tissue-lymph interference. *Microvasc. Res.* 2: 361-391, 1970.
20. Leak, L.: Studies of permeability of lymphatic capillaries. *J. Cell. Biol.* 50: 100-423, 1971.
21. Litt, M.: Rheological aspects of mucociliary blow. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 221: 212-213, 1974.
22. Low, F. N. and Sampio, M. M.: The pulmonary alveolar epithelium as an endodermal derivate. *Anat. Rec.* 127: 51-63, 1957.
23. Niden, A. H.: Bronchiolar and large alveolar cell in pulmonary phospholipid metabolism. *Science*. 158: 1323-1324, 1967.
24. Rybicka, K., Daly, B. D., Milgiore, J. J. and Norman, J.: Ultrastructure of pulmonary alveoli of the calf. *Am. J. Vet. Res.* 35: 213-222, 1974.
25. Schneeberger, K. E. and Karnovsky, M. J.: The influence of intravascular fluid volume on the permeability of newborn and adult mouse lungs to ultrastructural protein tracers. *J. Cell. Biol.* 49: 319-334, 1971.
26. Schneeberger, K. E.: The permeability of the alveolar capillary membrane to ultrastructural protein tracers. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 221: 238-243, 1974.
27. Shea, S. M. and Karnovsky, M. J.: Brownian motion: A theoretical explanation for the movement of vesicles across the endothelium. *Nature*. 212: 353-355, 1966.
28. Staub, N. C., Bland, R. D., Brigham, R. L., Demling, R., Erdmann J. and Woolverton, W.: Preparation of chronic lung lymph fistula in sheep. *J. of Surgical Res.* 19: 315-320, 1975.
29. Szidon, J. P., Pietra C. G. and Fishman, A. P.: The alveolar capillary membrane and pulmonary edema. *New England. J. Med.* 286: 1200-12004, 1972.
30. Valdivia, E., Sonnar, J. and D'Amato J.: Fatty change of the granular pneumocyte. *Science*. 151: 214, 1966.
31. Wiederhielm, A. C.: The interstitial space and lymphatic pressure in the bat wing. In the Pulmonary circulation and interstitial space. Ed. Fishman and Hecht. University of Chicago Press. Chicago, 1969.

## **BASES ANATOMICAS DE LA CIRUGIA TUMORAL MAMARIA**

**Dr. Alberto Pérez García\***

**Dra. María Elena Pérez González\*\***

**Dr. Horacio Olvera Hernández\*\*\***

### **RESUMEN**

El conocimiento de los detalles del desarrollo embrionario y de la constitución de la glándula mamaria, permiten al médico, en primer lugar, fundamentar los signos clásicos del carcinoma mamario que le den un diagnóstico veraz y seguro; y en segundo lugar, determinar con precisión la magnitud de la diseminación neoplásica, ya sea venosa o linfática, que van a normar el planteamiento de la conducta terapéutica a seguir, y el tipo de mastectomía más apropiada para cada caso en particular; ya que conociendo la distribución de los ganglios linfáticos axilares, y en especial de los ganglios de Rotter, y su invasión neoplásica a cada uno de ellos; la cirugía podrá ser parcial, mínima o "simple", seguida de radiación y quimioterapia, o bien se juzgará si se debe de practicar una mastectomía radical de Halsted, que puede ser la modificada, o bien la super-radical.

Finalmente, se analizan los resultados de la cirugía practicada, teniendo en cuenta estos conocimientos morfológicos, combinados con los datos que aportan los actuales métodos de exploración mamaria diagnóstica.

### **ABSTRACT**

The knowledge of embryonic development and constitution of the mammary gland allow the physician, first, a base for the classical signs of breast carcinoma which lead to a true diagnosis; and in the second place, to precise the real magnitude of neoplastic dissemination, be it venous or lymphatic, which give the foundation for the therapeutic conduct to be followed, and the type of mastectomy to be performed in the individual case. The knowledge

---

\* Ex Jefe del Servicio de Cirugía General del Hospital General del Centro Médico "La Raza" del IMSS.

\*\*\_Residente Rotatorio del C.M.N. del IMSS.

\*\*\* Médico Externo del ISSSTE.

of axillary lymphnodes distribution and specially the Rotter nodes, as well as their neoplastic invasion, allow to choose proper surgery: partial, minimal or "simple", followed by radiotherapy and chemotherapy; or else, to perform a Halsted radical mastectomy, modified or super-radical. The results of surgery, are analyzed, bearing in mind morphology knowledge and current diagnostic methods.

## EMBRIOLOGIA

La glándula mamaria, embriológicamente, no es más que una glándula de origen cutáneo, del tipo alveolo-tubular complicado, altamente diferenciada, que ha alcanzado un desarrollo considerable.

Schultze, en 1892, fue el primero en describir, en los embriones de ciertos mamíferos, como el cerdo, perro, gato, zorra, etc., una elevación o engrosamiento epitelial lineal, dirigida oblicuamente de arriba abajo, y de atrás hacia adelante, desde la raíz del miembro superior, hasta la raíz del miembro inferior, a la que dio el nombre de "línea mamaria primitiva".

Posteriormente, Kallius, en 1896, comprobó en embriones humanos de 34 días, en el plano látero-dorsal del tronco, en ambos lados, una cresta lineal, de 15 a 20 mm. de longitud, y de 0.2 mm. de altura, extendiéndose sin interrupción desde el esbozo del miembro torácico (futuro hueco axilar), hasta el esbozo del miembro abdominal (futuro pliegue inguinal).

Un poco por debajo del origen superior axilar de esta cresta lineal, se observa el máximo desarrollo en espesor, para después ir atenuándose hacia su extremidad inferior inguinal. Es en este punto de mayor desarrollo o de

mayor elevación, en donde ha de desarrollarse posteriormente la glándula mamaria del adulto.

Los cortes transversales seriados de esta cresta lineal mamaria demuestran que es el resultado de una proliferación o engrosamiento local del ectodermo en forma de cinta, y que al continuar la división celular acelerada en la zona de la futura mama, el engrosamiento epitelial comienza a presionar hacia abajo, en el tejido conjuntivo subyacente.

En la octava semana, ya es muy difícil seguir la línea mamaria en su totalidad, pero en el punto en donde las glándulas mamarias comienzan a formarse, se observa una masa lenticular de células epiteliales extendidas profundamente en el mesénquima subyacente, para formar los lóbulos glandulares, y por otra parte, se proyectaron hacia fuera, para formar el pezón.

A lo largo de esta línea aparecen luego los engrosamientos locales, ovales o fusiformes, unidos entre sí por partes intermedias a la vez menos anchas y menos salientes. Estas especies de "puentes intermedios", no solamente no se desarrollan, sino que se atenuan poco a poco y acaban por desaparecer. Las partes hinchadas, por el



contrario, continúan creciendo a la vez por fuera y por dentro, y resultan más tarde, por efecto de una serie de transformaciones, las mamas del adulto, por eso se les ha dado el nombre de: puntos mamarios (Schultze), montículos mamarios (Bonnet), o bosquejos en forma de huso (Rein).

No todos los citados engrosamientos terminan necesariamente en una mama adulta, algunos desaparecen en el curso del desarrollo, reduciendo así el número de mamas.

En la especie humana, las diferentes alturas en que se desarrollan las mamas, en las distintas razas, es un índice de la escasa disparidad de niveles de la línea mamaria. Normalmente, las variaciones se producen dentro de límites más bien estrechos de la región pectoral, pero con frecuencia, pueden presentarse pezones suplementarios a lo largo de la línea mamaria.

Uno de los rasgos característicos de las mamas supernumerarias es que se desarrollan, no en cualquier región, sino en puntos que, en los animales, presentan mamas normales. La polimastia en la mujer, viene a ser así la reproducción de un tipo que es constante en la serie zoológica, y por esto adquiere toda la significación de las anomalías llamadas "reversivas".

Williams, con el fin de indicar las diferentes situaciones de las mamas supernumerarias, propuso un esquema de localización en un sujeto hipotético que poseyera siete pares de mamas, de las cuales, tres pares se desarrollarían por encima de las mamas normales, y tres

pares por debajo de ellas, a lo largo de la línea mamaria primitiva. Pero es posible encontrar mamas supernumerarias, por encima y por debajo de los límites señalados por Williams.

Durante el tercer mes, las masas celulares primarias, destinadas a formar las glándulas mamarias, crecen lentamente sin mostrar mucha diferenciación.

Durante el cuarto mes, los cordones celulares comienzan a extenderse en varias direcciones por el tejido conjuntivo circundante. Estos cordones formarán la pared de los conductos principales, y los acúmulos celulares terminales situados en los extremos finales de los cordones, han de ramificarse posteriormente una y otra vez para constituir los conductos menores y los acinos secretores de la glándula.

El crecimiento de este sistema es muy lento, tanto, que al nacer sólo han tomado forma los conductos principales. En este momento no hay diferencia evidente en el desarrollo de las glándulas mamarias de ambos sexos.

En el varón, las glándulas mamarias no experimentan cambios apreciables respecto a las características de las mismas en la infancia. En la mujer, hay pocos cambios hasta que se aproxima la pubertad, momento en que comienza el rápido aumento de tamaño de las mamas.

La forma del seno, se debe en su mayor parte a la grasa acumulada que rodea a la glándula.

En la pubertad, los cordones epiteliales primitivos crecen gradualmente, pero el volúmen real de la porción se-

cretora es muy pequeño en relación a la totalidad de la mama.

## ANATOMIA

De la glándula mamaria, y ya con una orientación anatómica quirúrgica, nos interesan sus límites topográficos, siendo éstos: por arriba, la clavícula; por dentro, la línea medio esternal; por abajo, el séptimo cartílago costal; y por fuera, el borde externo del dorsal ancho; así como tener presente, que su cuerpo glandular puede extenderse hacia la axila, atravesando para esto un "agujero" de la aponeurosis axilar, "agujero de Langer", que se conoce como "cola axilar de Spence".

La constitución anatómica de la glándula mamaria está integrada por tres porciones: una capa cutánea; un estroma, compuesto de tejido adiposo subcutáneo, y de tejido conectivo de sostén; y un parénquima, que es el tejido glandular, propiamente dicho.

La capa cutánea es delgada, flexible, elástica, con escaso vello, con glándulas sudoríparas y sebáceas, con venas superficiales prominentes, y que está adherida a la capa adiposa subyacente.

Esta capa presenta una zona areolar central, hiperpigmentada, con elevaciones formadas por glándulas mamarias rudimentarias: tubérculos de Morgagni en la virgen, y de Montgomery en la múltipara, teniendo el corion basal sin celular.

En su centro se encuentra el pezón, en el que desembocan de 15 a 20 conductos galactóforos, con numerosas

glándulas sebáceas, y con fibras musculares lisas, que integran el músculo erector del pezón.

El estroma, situado bajo la piel, cubre y envuelve a la glándula, constituyendo su aponeurosis superficial, conocida con el nombre de "cápsula adiposa mamaria". Esta cápsula manda hacia el interior de la glándula, verdaderos tabiques fibrosos que van del corion de la piel hacia adentro, pasando entre los lóbulos y los lobulillos y separándolos entre sí. Estos tabiques fibrosos se denominan "retináculos cutis" o "ligamentos suspensorios de Cooper", más abundantes en los cuadrantes superiores de la glándula, y que determinan unos levantamientos superficiales del tejido glandular, conocidos como crestas glandulares.

Por último, el parénquima glandular que integra el cuerpo de la glándula mamaria, está formado por unidades secretorias, que son de 15 a 20 lóbulos, de forma piramidal irregular, con el vértice orientado hacia el pezón, compuestos por lobulillos cada uno con su conducto excretor propio, los cuales se van uniendo entre sí, para desembocar en un conducto galactóforo común de cada lóbulo, el cual tiene su orificio externo, cutáneo, abierto en el pezón y presentando una dilatación antes de abrirse, llamada "seno galactóforo" o "lactífero".

Esto nos hace considerar a la mama, formada por "unidades secretorias" independientes una de otra, y nos explica el por qué de la multicentricidad del cáncer mamario.

Por detrás del tejido glandular parenquimatoso, hay un plano de grasa retromamaria, apoyado en una fascia superficialis o "ligamento suspensor de la mama", que está separado de la aponeurosis del pectoral mayor, por una capa de tejido celular laxo, lo que permite a la glándula deslizarse libremente sobre el plano de la pared torácica.

Las arterias que irrigan a la mama, provienen de tres pedículos principales:

1. De la arteria mamaria interna, rama de la subclavia, por medio de sus ramas perforantes, o intercostales anteriores, principalmente la segunda y la cuarta, que saliendo a través del extremo interno de los espacios intercostales, van a irrigar la parte supero-interna de la glándula.
2. De la arteria mamaria externa o torácica inferior, nacida en la axilar, que a través de dos o tres ramas, va a irrigar las porciones lateral y caudal de la mama.  
Podríamos considerar a este mismo nivel, a la arteria torácica superior, originada también en la axilar, que por medio de ramas delgadas, nutre la porción superior y externa de la glándula.
3. De las arterias intercostales posteriores, ramas de la aorta torácica, que por sus ramas perforantes laterales y anteriores, que salen en cada espacio intercostal, irrigan la porción inferior y la cara profunda de la glándula.

El drenaje venoso, va a nacer de una red subcutánea que tiene su origen en la base del pezón, y que a nivel de la periferia de la areola, forma el llamado "círculo venoso de Haller", del cual parten dos sistemas venosos: uno superficial y otro profundo que se anastomosan entre sí en el espesor de la glándula o en su circunferencia.

Las venas superficiales se dirigen hacia arriba, a la red venosa yugular externa, en la interna y en el tronco venoso braquiocéfálico correspondiente.

Hacia abajo, la circulación venosa drena a la red venosa superficial abdominal.

Hacia afuera, van a desembocar, dando la vuelta al borde inferior o externo del pectoral mayor, en la vena axilar. Por dentro, estas venas superficiales, atravesando los primeros espacios intercostales, van a la vena mamaria interna.

Las venas profundas, salen de la cara posterior o profunda de la glándula, y atravesando los músculos pectorales, desembocan en las venas intercostales y por ellos a las venas acigos mayor.

El drenaje mamario linfático, se hace a dos niveles: superficial o cutáneo, y otro profundo o parenquimatoso.

El drenaje cutáneo nace de un plexo circunareolar, al cual llegan linfáticos de la glándula y de la piel del pezón, y se dirigen:

- a) Por fuera, a los ganglios axilares anteriores o pectorales.
- b) Por arriba, a los ganglios axilares internos y a los apicales o subclaviculares.

c) Por dentro, a los ganglios mamarios internos y a los linfáticos cutáneos del lado opuesto, cruzando la línea media y estableciendo una comunicación entre los plexos linfáticos de las dos mamas.

Son cuatro ganglios de cada lado, y están colocados en el primero, segundo, tercero y quinto o sexto espacios intercostales.

De ellos parten vasos linfáticos eferentes que van a los ganglios linfáticos de la base del cuello.

d) Por abajo, a los linfáticos abdominales superiores de la vaina de los rectos y al hígado.

El drenaje profundo parenquimatoso, nace igualmente del plexo subareolar, del que salen dos troncos eferentes principales que perforan la aponeurosis profunda a nivel del borde externo del pectoral mayor.

El tronco eferente superior, recibe la circulación linfática de la porción externa de la mama, y va a los ganglios axilares anteriores.

El tronco eferente inferior, recibe la linfa de la porción interna de la mama, y va a desembocar a los ganglios axilares internos, y a los apicales o subclaviculares.

Existen además, dos colectores accesorios, que van del plexo subareolar a los ganglios de Halsted o apicales y a los laterales o braquiales, respectivamente, teniendo un recorrido transpectoral o retropectoral.

Hay que tener presente que todos los grupos ganglionares de la axila, des-

embocan finalmente en los ganglios del grupo apical o subclavicular, y que los vasos eferentes de este grupo, van hacia arriba, por detrás de la clavícula, a las venas yugular interna y subclavia, al tronco linfático broncomediastínico y yugular, y a los ganglios del hueco supraclavicular.

Los nervios que invieran la glándula mamaria tienen tres orígenes: primero, de los nervios intercostales; segundo a sexto, después de la rama supraclavicular del plexo cervical superficial; y por último de las ramas torácicas del plexo braquial. Además recibe filetes simpáticos que llegan a la glándula, junto con los vasos arteriales.

Estas ramas nerviosas, van a terminar en la forma siguiente: en la piel de la glándula, como nervios sensitivos de los corpúsculos de Pacini; en las fibras musculares lisas de la areola y del pezón, como nervios motores; en los vasos arteriales de la glándula, con efecto vasomotor; y finalmente, en la glándula misma, como nervios secretores o glandulares.

Estos últimos, los nervios secretores, van directamente al epitelio secretor y forman en la superficie externa de los acinos glandulares, una red periacinosa o "epilemal", de la que parten tabiques fibrosos, que atraviesan la membrana propia del acino y ya dentro de él, forman la red intra-acinosa o "hipo-lemal".

De esta red intra-acinosa, en cuyas mallas existen abultamientos en botón, y colocada en la base de las células glandulares, formando la "red subce-

lular", y entre las células glandulares en la "red intercelular", van a partir fibrillas muy delgadas que se introducen en el protoplasma de las células secretoras y forman la "red intracelular".

## CIRUGIA

El conocimiento de los detalles de la constitución anatómica de la glándula mamaria, nos permite fundamentar los tres signos del carcinoma mamario, que se deben de buscar siempre en clínica:

1. La invasión enoplásica a los ligamentos suspensorios de Cooper, o "retináculo cutis", produce el acortamiento, la depresión y fijación de la piel, dando la conocida "piel de naranja", típica de estos tumores.
2. La participación carcinomatosa invasora de los conductos galactóforos, produce el acortamiento, la fijación y la retracción o inversión del pezón.
3. La invasión enoplásica a las porciones profundas y centrales de la glándula, así como el tejido celular retromamario, produce la fijación glandular a la aponeurosis pectoral superficial, obteniéndose así una elevación de la mama, que constituye un signo de neoplasia avanzada invasora.

Las ramas arteriales derivadas de las arterias intercostales posteriores, aunque pequeñas, deben ser tenidas en cuenta por el cirujano, ya que cuando está

despegando la glándula con el músculo pectoral mayor, debe ligarlas antes de cortarlas, pues de no hacerlo así, las arterias se retraen hacia el interior del tórax, y presentan entonces grandes dificultades para su ligadura.

El conocimiento de la circulación venosa de la mama es básica para poder interpretar claramente la diseminación que por vía sanguínea venosa tiene el carcinoma mamario. Así, teniendo presente que las venas de la mama comunican con:

1. La vena cava superior, a través de la vena axilar, nos explicamos las metástasis pulmonares.
2. Con el plexo venoso vertebral, a través de las venas intercostales y la vena ácigos mayor, dándonos así el fundamento de las metástasis óseas de la columna vertebral.
3. Con el sistema venoso portal, a través de la vena ácigos mayor y de las venas del ligamento falciforme, nos explican la propagación metastásica al hígado.

El drenaje linfático mamario, deberá de ser tomado muy en cuenta, tanto por el clínico, para basar su diagnóstico, como por el cirujano, para fundamentar su indicación quirúrgica, el tipo de operación que deberá efectuar en cada caso en particular, y durante el acto quirúrgico, teniendo presente el número de ganglios linfáticos que forman cada grupo ganglionar axilar y mamario interno, podrá darse cuenta de que su vaciamiento linfático ha sido satisfactorio.

Por eso es útil recordar que el drenaje linfático de la mama es en un 75% hacia los ganglios axilares, en un 20% hacia la cadena ganglionar mamaria interna, y que un 5% drena a los ganglios mediastínicos posteriores, a través de los linfáticos intercostales.

Igualmente, debemos recordar, que los ganglios linfáticos de la axila, se organizan en seis grupos que son:

1. Grupo posterior o subescapular, con 6 o 7 ganglios.
2. Grupo externo o braquial, con 4 o 5 ganglios.
3. Grupo anterior o pectoral anterior, con 4 o 5 ganglios.
4. Grupo interno o pectoral posterior, con 3 o 4 ganglios.
5. Grupo central, con 3 o 5 ganglios.
6. Grupo apical o subclavicular, con 4 o 5 ganglios, llamados ganglios de Halsted.

El cirujano durante el transoperatorio, deberá de tener presentes, los llamados "ganglios de Rotter", colocados en una posición internapectoral posterior. Cuando estos ganglios se encuentran hipertrofiados mostrando franca invasión del proceso tumoral mamario, el cirujano deberá cambiar su táctica, y si tenía planeada una mastectomía radical modificada, transformarla por una mastectomía radical clásica, según la técnica preconizada desde hace cien años por Halsted, teniendo la precaución de precisar los tres niveles quirúrgicos en que se dividen los ganglios axilares, tomando al pectoral menor como base:

- Nivel I. Por fuera del borde lateral del pectoral menor.
- Nivel II. Por detrás del pectoral menor.
- Nivel III. Por dentro y arriba del pectoral menor.

Durante la intervención quirúrgica, estos niveles deberán ser marcados por el cirujano con unas "monedas" que tienen una, dos y tres perforaciones, y que se colocan durante la disección, ya que una vez extirpada la pieza quirúrgica, es muy difícil situar estos niveles, que son muy importantes para condicionar el vaciamiento ganglionar según sea el sitio de origen del tumor mamario, pues sabemos que las tumoraciones de los cuadrantes externos, drenan únicamente hacia los ganglios axilares y que las de los cuadrantes internos, drenan hacia los ganglios axilares pero también hacia los ganglios mamaros internos.

La conducta terapéutica seguida, en los procesos tumorales de las glándulas mamarias, varió radicalmente a partir de la mastectomía simple, de la galactografía, y actualmente de la senografía bilateral comparada y de la biopsia ciega, ya que estas dos últimas, pueden demostrar pequeñas masas intraparenquimatosas por profundas que estén situadas, y demostrar la existencia de células con cambios atípicos, hasta en un 60% de los casos explorados.

En esta forma, la actual conducta quirúrgica, puede variar desde la mastectomía parcial y la mastectomía total mínima o simple, seguidas de radia-

ciones y quimioterapia, hasta la mastectomía clásica de Halsted, o bien alguna de sus variantes: la mastectomía radical modificada o la mastectomía super radical.

Deben preferirse las incisiones transversales, que vayan de la axila hacia abajo y adentro, siguiendo los espacios intercostales, incluyendo en el uso a la glándula mamaria, y cruzando la línea media esternal, ya que dan un mejor resultado cosmético.

De las técnicas arriba citadas, la más usual es la mastectomía radical modificada, para las lesiones situadas en los cuadrantes externos y con axila negativa, es decir sin ganglios aparentes, pues al no extirpar el músculo pectoral mayor, y cuidar de no lesionar su rama nerviosa, que va con la arteria torácica superior, rama de la acromio torácica de la axilar, se deja un tórax mejor, más "lleno", más "cosmético", sin la depresión del tórax, que deja la mastectomía radical clásica, y con un miembro superior más fuerte y más móvil.

La mastectomía radical modificada, extirpa la mama, incluyendo la fascia anterior del músculo pectoral mayor hasta su borde externo, y retrayéndolo hacia arriba y adentro, facilitada esta maniobra por la aducción del brazo, exponiendo así los planos profundos para resecar el músculo pectoral menor, desinsertándolo de la apófisis coracoides en la parte externa de su vértice, y de las tercera, cuarta y quinta costilla en su base, y "vaciando" los ganglios linfáticos situados alrededor de la vena axilar desde el ligamento de Halsted,

extendido desde la primera costilla hasta el extremo interno de la clavícula por dentro.

La fosa subescapular se disecciona también, respetando el nervio del músculo dorsal ancho o subescapular, el cual puede seccionarse o no al vaciar la axila, y llevándose en bloque toda la mama.

En las pacientes con ganglios axilares clínicamente positivos, así como en todos los casos de carcinomas residuales postradiación, se efectúa la mastectomía radical clásica de Halsted, en la que se extirpa el músculo pectoral mayor, y se lleva a cabo el vaciamiento axilar.

Por último, en los casos de cánceres de los cuadrantes internos, con o sin ganglios axilares clínicamente positivos, se practicará una mastectomía super radical, que incluye la extirpación de los músculos pectorales, la disección de la axila, y la resección de los ganglios linfáticos de la cadena mamaria interna mediante una esternotomía media.

Se deberá extirpar en un bloque, todo el espesor de la parrilla costal, resecano el borde lateral del esternón y los extremos internos de la segunda, tercera y cuarta costillas, junto con sus cartílagos costales; así como el extremo interno de la clavícula y de la primera costilla. Como los linfáticos mamarios internos van íntimamente adheridos a la pleura, en el bloque quirúrgico, deberá incluirse también a ésta. El defecto quirúrgico torácico resultante, se reconstruirá por medio de un injerto de fascia lata, fascia de bovino, o bien cualquier

material, siendo el más usual la malla de silastic.

Los resultados que se obtienen con la cirugía oportuna en las lesiones tumorales mamarias mínimas, detectadas por la senografía y por la biopsia ciega de la glándula, en los pacientes que no proporcionan aún datos clínicos sospechosos, son excelentes en el 95 al 98% de los casos. Aún en los pacientes que presentan lesiones tumorales, cuyo tamaño no excede de los 2 cm. de diámetro, y que no tienen ganglios axilares, o en otro sitio, positivos, los resultados con la cirugía son buenos, en el 80% de los casos.

Si el paciente presenta una lesión tumoral menor de 2 cm. de diámetro, pero ya con ganglios linfáticos positivos, el éxito que se obtenga con la cirugía, dependerá del nivel en que se hayan encontrado los ganglios. Así, ganglios positivos clínicamente, en el Nivel I, el resultado será bueno en un 60% de los casos; ya con ganglios positivos en el Nivel II, el resultado baja al 45% de los casos; y finalmente, con ganglios positivos en el tercer nivel, sólo se ob-

tendrá un resultado satisfactorio en el 30% de los casos.

Por último, en las lesiones mamarias amplias, con ganglios positivos clínicamente en axila, o en hueco supraclavicular o en los casos de carcinomas residuales postradiación, el resultado que se obtiene, es malo, ya que sólo hay sobrevida en el 15% de las pacientes.

#### BIBLIOGRAFIA

1. *Langman, J.*: Embriología médica. Segunda edición, 1969.
2. *Hamilton, W. J.*: Embriología humana. Cuarta edición, 1973.
3. *Testut, L. y Latarjet, A.*: Tratado de Anatomía Humana. Novena edición, IV tomo.
4. *Pernskopf, Ed.*: Anatomía topográfica humana. Segunda edición, tomo I, 1953.
5. *Prives, M.; Lisenkov, N. y Bushkovich, V.*: Anatomía humana. Segunda edición, tomo II, 1975.
6. *Antúnez, L. L.*: Atlas de anatomía humana. Primera edición, 1970.
7. *Healey, J. E., Jr.*: Anatomía clínica. Primera edición, 1972.
8. *Cutler, C. E. y Zollinger, R.*: Atlas de Operaciones Quirúrgicas. 1941.
9. *Seymour, I. y Schwartz, M. D.*: Principles of Surgery. Segunda edición. Primer tomo, 1974.