

41
2es.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

COMPARACION DEL NUMERO DE MASTOCITOS EN
PIEL DE PERRAS EXPUESTAS A DISTINTAS
CONDICIONES CLIMATICAS (TEMPLADO
SUBHUMEDO Y CALIDO SUBHUMEDO)

TESIS PRESENTADA ANTE LA
DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DE LA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
PARA LA OBTENCION DEL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
POR
MARIA BEATRIZ CARMONA ACEVES

ASESORES: M.V.Z. ROSA EMILIA LAVIELLE
M.V.Z. MARIO PEREZ MARTINEZ



MEXICO, D. F.,

1995

FALLA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A mi abuelo, Don Isidro Carmona Jaramillo, por haberme hecho prometer que algún día llegaría a ser alguien en la vida.

A mi madre, Amelia Aceves de Carmona, por haberme enseñado-- lo importante que es creer en uno mismo para poder salir adelante y así lograr nuestras metas por más difíciles que estas sean.

A mi padre, Lic. Jesús Carmona y Mendoza, por ser mi gran--- amigo y mi mejor consejero. Gracias por haber tenido confianza en mi.

AGRADECIMIENTOS

A mi esposo M.V.Z. David Martínez H. y a mi hijo Jesús David, con todo mi amor y agradecimiento por todo el apoyo y paciencia que me han tenido.

A mis hermanos, Jesús y Julián, por todo lo que significan para mi. Gracias.

A la Dra. Rosa E. Lavielle con mi más profundo agradecimiento, no solo por ser mi asesora en este trabajo, sino por serlo a lo largo de mi vida.

Con respeto y admiración a mi asesor M.V.Z. Mario Pérez Martínez, por su gran apoyo y por su valioso tiempo dedicado a la realización de este trabajo. Mil gracias.

A mis grandes amigos: Violeta, Yukie, Rosi, Cuauhtémoc y ---- Eduardo. Mil gracias por su incalculable e invaluable ayuda.

A la M.V.Z. Martha Trejo Salas, Jefa del Departamento de Morfología de la FMVZ-UNAM, por las facilidades otorgadas para la realización del presente trabajo.

Al Mc. Raúl Ulloa, por la asesoría brindada en el análisis estadístico.

Al Tec. Lab. Francisco López López, del Laboratorio de Histología de la FMVZ-UNAM, por el apoyo brindado en el procesamiento histológico.

Al Centro Antirrábico de la ciudad de Veracruz, Ver., al Centro Antirrábico de San Francisco Culhuacán, D.F., por las facilidades otorgadas para la obtención del material biológico requerido para este estudio.

Al II. Jurado:

M.V.Z. Santiago R. Anzaldúa Arce.

M.V.Z. Oscar Oliveros Belmont.

M.V.Z. Jesús Marín Heredia.

M.V.Z. Victoria Yukie Tachika Ohara.

M.V.Z. Mario Pérez Martínez.

Por haber dispuesto de su tiempo para revisar este trabajo.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
OBJETIVOS.....	5
HIPOTESIS.....	5
MATERIAL Y METODOS.....	6
RESULTADOS.....	8
DISCUSION.....	9
LITERATURA CITADA.....	12
CUADROS Y FIGURAS.....	15

RESUMEN

CARMONA ACEVES, MARIA BEATRIZ. Comparación del número de mastocitos en piel de perras expuestas a distintas condiciones climáticas (templado subhúmedo y cálido subhúmedo). (Bajo la asesoría de la M.V.Z. Rosa Emilia Lavielle y M.V.Z. Mario Pérez Martínez).

Con el propósito de conocer si existen diferencias cuantitativas entre la población de mastocitos (MC) de la piel de perras expuestas a un clima templado subhúmedo y cálido subhúmedo se efectuó el presente trabajo, para lo cual se utilizaron 10 perras clínicamente sanas, 5 procedentes del centro antirrábico de San Francisco Culhuacán, D.F. y 5 del Centro antirrábico de la Ciudad de Veracruz, Veracruz. Se tomaron fragmentos de piel de 2 cm de cuatro regiones anatómicas, se fijaron en solución de formol salino al 10% durante 72 horas y se procesaron siguiendo el método de inclusión en parafina. Se efectuaron cortes de 6 μ m de espesor y se tiñeron con azul de toluidina, posteriormente se contaron los MC existentes por mm², para lo cual se utilizó un ocular con retícula micrométrica. Hubo diferencia estadística significativa únicamente en la región dorsal de los animales expuestos a ambas condiciones climáticas ($P < 0.05$). Con base en los resultados obtenidos se puede concluir que la población de mastocitos por mm² existente en la piel de las regiones anatómicas: ventral, femoral lateral izquierda y costal de los animales expuestos a ambas condiciones climáticas no presentan diferencias significativas, por lo que la piel de dichas regiones en un momento dado posee la misma capacidad para desencadenar un proceso inflamatorio.

INTRODUCCION

La piel constituye una barrera anatómo-fisiológica entre el animal y el medio ambiente que lo rodea, ya que cumple funciones de: barrera, termoregulación, percepción sensorial, antimicrobiana, secreción, pigmentación y reservorio de moléculas básicas (3,12,20,21).

La piel es considerada como el órgano más extenso de un individuo ya que cubre la superficie corporal, por lo que esta expuesta a la acción de factores medio ambientales de tipo: Físicos (temperatura, humedad y traumatismos entre otros), químicos y biológicos (parásitos, bacterias, hongos y virus); muchos de los cuales pueden predisponer y/o desencadenar diversas afecciones de la piel.

Por lo anterior se puede considerar a la piel como un indicador del estado de salud de los individuos. Para su estudio se ha dividido en dos porciones: la epidermis y la dermis (10,14,16,18,19,20).

La epidermis esta compuesta por epitelio estratificado plano queratinizado. En la dermis se distinguen dos zonas: una superficial (papilar) y una profunda (reticular). La capa superficial esta en contacto con la epidermis a través de la membrana basal y se amolda a su contorno por medio de papilas (clavos epidérmicos). La zona de conjuntivo laxo esta constituida por fibras de colágena, reticulares y elásticas, en este sitio se localizan diversos tipos celulares: fibroblastos, macrófagos, células de Langerhans,

plasmocitos y mastocitos. La zona profunda o reticular esta constituida de tejido conjuntivo irregular rico en colágena. La irrigación proviene de la porción profunda de la capa reticular y forma tres plexos de pequeños vasos: plexo superficial, plexo intermedio y plexo profundo (3,6,7,10,13,15).

Los mastocitos (MC) fueron identificados por primera vez por Ehrlich en 1877 como un grupo de células pertenecientes al tejido conectivo. Tales células se caracterizan por presentar gránulos basófilos en su citoplasma los cuales resultan metacromáticos cuando se tiñen con anilinas básicas. Dichos gránulos contienen diversas sustancias de importancia fisiológica en los mamíferos: Histamina (HA), heparina, factor quimiotáctico para neutrófilos y eosinófilos (leucotrieno B₄), factor activador de plaquetas y los leucotrienos C₄ y D₄; en algunas especies se informa de la presencia de serotonina (5-HT) y en los rumiantes de la dopamina (1,2,3,28).

Estas células se originan a partir de células progenitoras localizadas en ciertos tejidos hematopoyéticos fetales que durante el desarrollo embrionario se distribuyen en las distintas porciones del organismo donde dan lugar a células precursoras de los mastocitos; dichas precursoras tienen la capacidad de multiplicarse in situ por mitosis o bien transformarse en MC a través de un proceso de maduración. Su multiplicación se lleva a cabo solo durante

ciertas horas de la noche y es inducida por diversos factores tales como los irritativos (1,3,10).

Con base en las características morfológicas y el origen de los MC, algunos autores proponen la existencia de una heterogenicidad en estas células: las que se localizan en el tejido conjuntivo de las mucosas, en el conjuntivo del árbol bronquial y en el tejido conjuntivo del resto del organismo. Dentro de los procesos fisiológicos en que están involucrados los MC se citan: la hipersensibilidad inmediata, la quimiotaxis de neutrófilos, eosinófilos y macrófagos, la hipersensibilidad retardada y respuestas inflamatorias de tipo no inmunológico (2,3,4,11,28).

Debido a que los MC constituyen en los mamíferos el principal reservorio de HA, participan activamente en la respuesta inflamatoria tisular y en diversos procesos inmunológicos. Cuando los MC se activan pueden presentarse dos tipos de eventos en cuestión de minutos:

- a) la liberación de mediadores inflamatorios contenidos en sus gránulos, que pueden provocar respuestas locales y/o sistémicas tempranas características de las reacciones de hipersensibilidad inmediata, a saber: vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular, prurito y dolor.
- b) inducción de respuestas inflamatorias tardías en un periodo de 2 a 24 horas, esta fase se caracteriza porque ocurre la infiltración de neutrófilos, eosinófilos y células mononucleares en el área afectada (2,5,8,16,28).

OBJETIVOS.

I. Cuantificar y describir el patrón de distribución de los MC en el tejido conjuntivo subepitelial de piel de perras de las siguientes regiones anatómicas: plano mediano dorsal a nivel de la segunda o tercera vertebra torácica (región dorsal); sexto espacio intercostal derecho a nivel del tercio medio (región costal); región femoral lateral izquierda y plano mediano ventral inmediatamente caudal a la cicatriz umbilical.

II. Determinar si existen diferencias cuantitativas de estas células entre las distintas regiones anatómicas consideradas para cada condición climática.

III. Determinar si existen diferencias cuantitativas entre los valores promedio, obtenidos de los animales procedentes de ambas condiciones climáticas.

HIPOTESIS

Los MC del tejido conjuntivo subepitelial de la piel de perras registran cambios en su número de acuerdo a la condición climática a que están expuestas, por lo que existen diferencias cuantitativas de la población de estas células entre los animales expuestos a condiciones de clima templado subhúmedo y cálido subhúmedo.

MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Histología del Departamento de Morfología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, durante los meses de mayo a octubre de 1994.

El material biológico requerido para este trabajo se obtuvo a partir de las perras sacrificadas en el Centro antirrábico de San Francisco Culhuacán, Distrito Federal y del Centro antirrábico de la Ciudad de Veracruz, Veracruz; ambos centros dependientes de la Secretaría de Salud. Dichos animales se sacrifican después de haber estado en observación durante cierto tiempo con el fin de verificar que no presentan signos de rabia.

Material biológico

Para este estudio se utilizaron 10 perras clínicamente sanas sin considerar la raza, con una edad aproximada entre uno y cinco años; cinco de las cuales procedieron del Distrito Federal que cuenta con un tipo de clima C(W1) (W) b (i): templado subhúmedo con lluvias en verano y las restantes procedieron de la Ciudad de Veracruz, la cual presenta un tipo de clima A W2" (w) (i): cálido subhúmedo con lluvias en verano (26).

La edad de los animales se calculó siguiendo el criterio considerado por De la Puente (22). (figura 1).

Con el propósito de obtener valores que reflejen la cantidad de MC existentes en la dermis de la piel, se tomaron fragmentos de 2 ³ cm de las siguientes regiones anatómicas: plano mediano dorsal a nivel de la segunda o tercera vertebra torácica (región dorsal); sexto espacio intercostal derecho a nivel del tercio medio (región costal); región femoral lateral izquierda (figura 2) y plano mediano ventral inmediatamente caudal a la cicatriz umbilical (región ventral). (figura 3).

Los fragmentos obtenidos se fijaron en solución de formol salino al 10% durante 72 horas. Se utilizó este fijador debido a que en experiencias previas se ha observado que confiere una mayor nitidez y calidad metacromática a la obtenida con otras soluciones fijadoras (25).

Posteriormente se procesó siguiendo el método de inclusión en parafina. Se realizaron cortes con un microtomo a un espesor de 6 μ m, las cuales se tificaron con hematoxilina-eosina para observar la organización histológica general de la piel y con azul de toluidina para realizar el conteo de MC.

Para el conteo celular se consideró el tejido conjuntivo subepitelial (figura 4). Se contaron las células en 16 campos escogidos al azar, para conocer su población por mm². Para ello se utilizó un lente ocular con retícula micrométrica marca Zeiss y el objetivo 40 X.

RESULTADOS

Los promedios obtenidos de MC por mm^2 para los animales expuestos a condiciones de clima templado subhúmedo fueron: 33.6 ± 13.1 , 57.2 ± 22.2 , 35.6 ± 12.7 , 35.6 ± 11 y para los animales expuestos a condiciones de clima cálido subhúmedo fueron: 90.6 ± 29.1 , 104.2 ± 44.5 , 60.8 ± 26.4 y 56.2 ± 25.4 , para las regiones dorsal, ventral, femoral lateral izquierda y costal respectivamente (Cuadro 1 y figura 5).

Para determinar si existían diferencias cuantitativas de MC por mm^2 entre los animales expuestos a las dos condiciones climatológicas consideradas se efectuó un análisis de varianza de una clasificación por rangos de Kruskal Wallis. Dicho análisis no paramétrico se utilizó debido a que los valores obtenidos del conteo mostraron una dispersión notable, resultando que hubo diferencia significativa ($P < 0.05$) únicamente en la región dorsal de los animales expuestos a ambas condiciones climáticas (9,27).

DISCUSION.

Con base en los resultados obtenidos, la región dorsal de las perras expuestas a ambas condiciones climáticas, fue la única en presentar diferencia significativa en la población de MC por mm^2 , siendo mayor la cantidad de células en los animales expuestos al clima cálido subhúmedo.

Debido a que el clima de tipo cálido subhúmedo proporciona las condiciones ambientales favorables para el desarrollo del ciclo biológico de diversos ectoparásitos, los animales que viven bajo estas condiciones climatológicas están más propensos a ser afectados por una amplia gama de artrópodos. Cabe mencionar que las perras expuestas al clima cálido subhúmedo utilizados en el presente estudio, no fueron la excepción ya que al tomar las muestras se detectó en ellas cierto grado de infestación por pulgas y garrapatas las cuales aun no habían desencadenado un cuadro inflamatorio severo, no obstante que el período de muestreo se llevó a cabo durante los meses que se caracterizan por una elevada precipitación pluvial.

Por otro lado el hecho de que los animales estén expuestos durante todo el año a una mayor temperatura ambiental puede ser un factor que de alguna manera modifique la dinámica funcional de los componentes celulares de la piel (17, 23, 24).

Respecto a los animales expuestos a condiciones de clima templado subhúmedo es necesario señalar que tres de ellos presentaron cierto grado de infestación por pulgas, sin embargo en ninguno se detectó otro tipo de artrópodo. Cabe mencionar que la procedencia de estos animales fue muy diversa; en algunos casos tomando en cuenta su buena condición general, se infirió que se trataba de animales cuidados por sus dueños ya que no presentaban algún tipo de ectoparasitosis.

La piel es un órgano que funciona como la primer línea de defensa corporal y esta expuesta continuamente a la acción de diversos agentes ambientales, los cuales pueden ser de naturaleza: física-traumática: rayos ultravioleta; química: irritantes-alérgicos y biológica: bacterias, parásitos, virus y hongos, dichos agentes en un momento dado pueden desencadenar un proceso inflamatorio, por ejemplo, la dermatitis por contacto (DC).

La DC es una respuesta inflamatoria de la piel que se presenta después de que ésta entra en contacto con un agente irritante o antigénico. En el perro existen dos formas de presentación de esta patología: a) dermatitis irritante por contacto (DIC) y b) dermatitis alérgica por contacto (DAC).

La DIC se origina por la exposición a un agente irritante de naturaleza física y/o química, la severidad de la reacción al agente depende de la concentración del mismo, tiempo de exposición a este, y condición clínica de la piel previa al contacto (16,19, 28,29).

Por otro lado, la DAC es una reacción de hipersensibilidad, mediada por células, de tipo retardado. Los alérgenos que causan la DAC son haptenos de bajo peso molecular que son capaces de penetrar la epidermis pero deben ser conjugados con proteínas (colágena) de la dermis para que puedan funcionar como antígenos, pudiendo desencadenar una reacción local de hipersensibilidad de tipo IV, caracterizada por la infiltración con células mononucleares, una vez que el animal queda sensibilizado después de cierto tiempo la reacción de tipo IV es reemplazada por una reacción de tipo I (5,21,28).

De los resultados obtenidos en el presente estudio podemos concluir que la población de MC por mm² existente en la piel de las regiones anatómicas: plano mediano ventral, femoral lateral izquierda y del sexto espacio intercostal a nivel del tercio medio de los animales expuestos a ambas condiciones climáticas, no presentan diferencias significativas, por lo que la piel de dichas regiones en un momento dado posee la misma capacidad para desencadenar un proceso inflamatorio.

LITERATURA CITADA

1. Anzaldúa, A.R.: La biología de la célula cebada (estudio recapitulativo). Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1985.
2. Baker, E.: Small Animal Allergy: A practical guide. Lea and Febiger, Philadelphia, 1990.
3. Banks, J.W.: Histología Veterinaria Aplicada. El Manual Moderno, México, D.F., 1986.
4. Becker, A.B., Fan Chung, K., Mc. Donald, D., Lazarus, S., Frick, D.L. and Gold, W.M.: Mast cell heterogeneity in dog skin. Anat. Rec., 213: 477-480 (1985).
5. Bowles, V.M., Grey, S.T. and Brandon, M.R.: Cellular immune responses in the skin of sheep infected with larvae of Lucilia cuprina, the sheep blowfly. Vet. Parasitol., 44:151-162 (1992).
6. Constantino, F. y Jefferies, A.R.: Ultraestructura de las células de Langerhans en la epidermis de cabras. Vet. Méx., 24: 317-320 (1993).
7. Cormack, D.H.: Histología de Ham. 9na ed. Harla, México, D.F., 1988.
8. Czarnetzki, B.M. and Mecklenburg, G.: In vivo studies of factors influencing mast cell numbers in rat skin. J. Dermatol. Sci., 2: 1-8 (1991).
9. Daniel, W.W.: Bioestadística: Base para el Análisis de las Ciencias de la Salud. Limusa, México, 1985.

10. Dellman, H. D. y Brown, M. E.: Histología Veterinaria, Acribia, Zaragoza, España, 1976.
11. Emerson, J.L., Cross, R.F.: The distribution of mast cells in normal canine skin, Am. J. Vet. Res., 26: 1379-1382 (1965).
12. Filtzpatrick, T.B., Eisen, A.Z., Wolff, K., Freedberg, J.N. and Frank Austen, K.: Dermatología en Medicina General. 3ra. ed. Medica Panamericana, Argentina, 1988.
13. Hartveit, F.: Mast cell association with collagen fibres in human breast stroma. Europ. J. Morphol., 31: 209-218 (1993).
14. Junqueira, L. y Carneiro, J.: Histología Básica. Salvat. Barcelona, España, 1974.
15. Leeson, R.C., Leeson, T.S., Paparo, A.A.: Histología. 5ta. ed. Interamericana, México, D.F., 1987.
16. Merchant, S.R.: Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal). 6: 247-303 (1991).
17. Monmaas, A.M., Mulder, A.A. and Vermeer, B.J.: Short-term and long-term UVB- induced immunosuppression in human skin exhibit different ultrastructural features. Europ. J. Morphol., 31: 30-34 (1993).
18. Moriello, K.A.: Common ectoparasites of the dog. Canine Practice, 14: 25-41 (1987).
19. Muller, G.H. and Kirk, R.W.: Small Animal Dermatology. W.B. Saunders company, Philadelphia, 1988.
20. Orkin, M., Maibach, H. and Dahl, M.V.: Dermatology. Appleton and lange, California, 1991.

21. Padilla, S.J., Castro, M.I. y Lara, D.S.: Apuntes de Medicina, Enfermedades de los Perros y los Gatos. J.I. Caballero, México, D.F., 1987.
22. Puente, J, De la.: Exterior y Manejo de los Animales Domésticos. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 1970.
23. Quiroz, R.H.: Parasitología y Enfermedades Parasitarias de Animales Domésticos. 4a. Ed. Limusa, México, D.F., 1990.
24. Roberts, L.K., Smith, D.R., Seilstad, K.H. and Jun, B.D.: The mechanisms involved in immune modulation by UV radiation. J. Photochem Photobiol. B., 2: 149-177 (1988).
25. Rocha, E. de los M. A.: Valoración de seis fórmulas fijadoras para evidenciar mastocitos en cortes de tejido de siete especies de mamíferos domésticos. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1985.
26. Secretaría de Programación y Presupuesto.: Dirección General de Geografía del Territorio Nacional, México, D.F., 1981.
27. Siegel, S.: Estadística no Paramétrica. Trillas, México, D.F., 1980.
28. Tizard, I.: Inmunología Veterinaria. 3ra. ed. Interamericana, México, D.F., 1990.
29. White, P.D.: Contact dermatitis in the dog and cat. Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal). 6: 303-315 (1991).

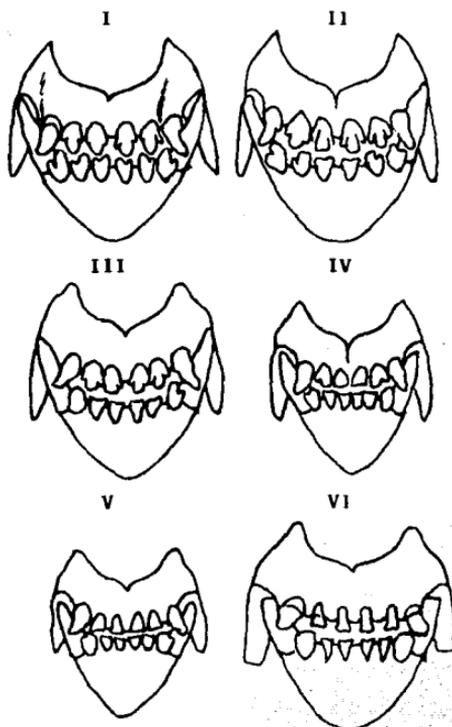


FIG. 1 CALCULO DE LA EDAD DE PERROS CON BASE EN LAS CARACTERISTICAS DE LA ARCADE DENTARIA.

- I= Dientes intactos (un año)
- II= Enrasan las pinzas inferiores (15-18 meses)
- III= Enrasan los medianos inferiores (2.5-3 años)
- IV= Enrasan las pinzas superiores (3-4 años)
- V= Enrasan los medianos superiores (4.5-5 años)
- VI= Desviación de los extremos y colmillos superiores o incisivos centrales muy gastados -- (9-10 años)

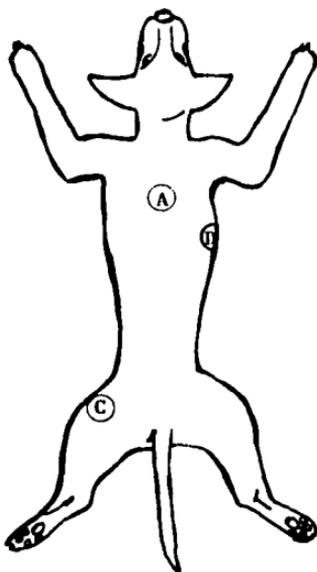


FIG. 2 REGIONES ANATOMICAS CONSIDERAS EN EL MUESTREO

A= Plano mediano dorsal (región dorsal).

C= Región femoral lateral izquierda.

D= Sexto espacio intercostal derecho (región costal).

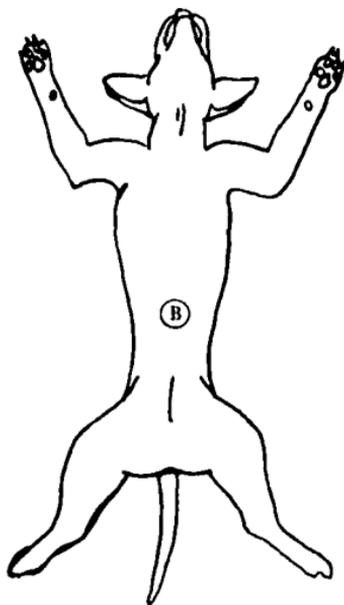


FIG. 3 REGIONES ANATOMICAS CONSIDERADAS EN EL MUESTREO
B: Plano mediano ventral, caudal a la cicatriz umbilical.



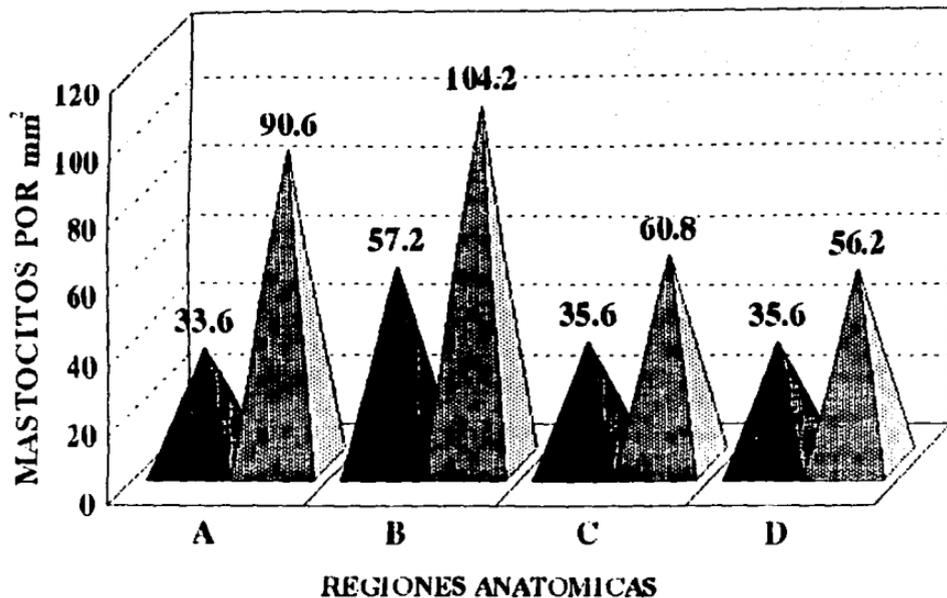
FIG. 4 MASTOCITOS EN TEJIDO CONJUNTIVO DE LA ZONA SUPERFICIAL DE LA DERMIS. 40X

CUADRO 1

PROMEDIO DE MASTOCITOS POR mm^2 EN DIFERENTES REGIONES ANATOMICAS
DE PERRAS EXPUESTAS A DOS CONDICIONES CLIMATICAS

TEMPLADO SUBHUMEDO		
REGION ANATOMICA	MEDIA	D.E.
A	33.6	13.1
B	57.2	22.2
C	35.6	12.7
D	35.6	11
CALIDO SUBHUMEDO		
REGION ANATOMICA	MEDIA	D.E.
A	90.6	29.1
B	104.2	44.5
C	60.8	26.4
D	56.2	25.4

A=Región dorsal, B=Región ventral, C=Región femoral lateral izq.,
D=Región costal



20

A= Región dorsal b=Región ventral c=Región femoral lat.izq. d=Región costal

▲ TEMPLADO SUBHUMEDO ◐ CALIDO SUBHUMEDO

FIG. 5 **PROMEDIO DE MASTOCITOS POR mm^2 EN PIEL DE PERRAS EXPUESTAS A DOS CONDICIONES CLIMATICAS**