



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN**

**DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA DE LA ENFERMEDAD VALVULAR  
DEGENERATIVA EN PERROS MEDIANTE LA UTILIZACIÓN DE  
DIFERENTES TÉCNICAS DE COLORACIÓN**

**T E S I S**  
**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**  
**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**  
**PRESENTA**  
**LUIS ESTEBAN ARROYO CÁZARES**

**ASESOR DE TESIS**  
**DR CARLOS IGNACIO SOTO ZÁRATE**

**COASESOR DE TESIS**  
**MVZ HUGO CÉSAR LÓPEZ FARÍAS**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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 esta 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 PADRE:** Por el amor que siempre me has demostrado, por compartirme tu sabiduría, por apoyarme en todo momento, porque gracias a las tareas que me ponías a realizar, hiciste que reflexionara sobre lo importante que era continuar con mis estudios y por todo. ¡MUCHAS GRACIAS PAPÀ! ¡TE AMO!

**A MI MADRE:** Por haberme dado la dicha de vivir, por tus cuidados, por tus desvelos, por ser una madre ejemplar, por compartir tantos momentos tan hermosos, por estar siempre pendiente de mi salud y por todo el amor que me has entregado desde el momento en que llegue a tu vida. ¡MUCHAS GRACIAS MAMÁ! ¡TE AMO!

**A LOURDES:** Por brindarme tu cariño, confianza y apoyo en todo momento. ¡Gracias pacharra!

**A CARMEN:** Por tu cariño y por creer en mi. ¡Gracias manita!

**A ALEJANDRO:** Por tu cariño, tu apoyo y por todos los consejos que recibí de ti para que continuara con mis estudios. ¡Muchas gracias! ¡Te quiero mucho carnal!

**A TERE:** Por tu cariño, por ser como eres y por hacerme reír tanto. ¡Gracias terita!

**A GABY:** Por tu cariño y por darme ese ejemplo de superación y de fortaleza. ¡Muchas gracias flaca woman!

**A BETY:** Por tu cariño, amistad, apoyo incondicional en todo momento y por interesarte en mi superación. ¡Muchas gracias betina! ¡Te quiero mucho!

**A DAVID:** Por tu cariño, por compartir conmigo tantas experiencias inolvidables, alegrías, derrotas, tantas desveladas y sobre todo por su amistad y tu confianza. ¡Muchas gracias charo! ¡Te quiero mucho!

**A MIS CUÑADOS Y CUÑADAS:** Ramón, Eduardo, Gaby, Sergio, Mauricio y Lucero. Por formar parte de esta gran familia.

A MIS SOBRINOS: Lalo, Yael, Abel, Karen, Emilio, Adrián, Luis David, Sofía, Luisito, Rodrigo, Mauricio, Octavio y por el o la que viene en camino. Gracias por regalarme tantos momentos de alegría. ¡Los quiero mucho!

A MI ESPOSA: Por creer en mí, por el apoyo que me has brindado para salir adelante en todo momento, por compartir tu vida con la mía, por demostrarme lo mucho que podemos lograr estando unidos, por el amor que me has entregado siempre y por darme el mejor regalo de mi vida; mi hija. ¡TE AMO NIÑA! GRACIAS POR EXISTIR!!!

A MI HIJA: Por ser mi sueño hecho realidad, por regalarme a diario esas sonrisas tan bellas, por impulsarme a seguir viviendo día a día, por hacerme el papá más feliz del mundo, por ti y para ti. ¡TE AMO NATALIA!

A la Sra. GUADALUPE VITAL: Por todo el apoyo que siempre me ha brindado y sobre todo para la culminación de este trabajo. ¡Muchas gracias!

A JOSE LUIS JARDÓN: Por compartir conmigo tantos momentos tan especiales, por tener un gran corazón, por tu sincera amistad y por tenerme ese gran aprecio. ¡Gracias chichitos! ¡Te quiero mucho! Nunca te des por vencido!!!

A RODAS: Mi perro fiel, el cual me dio tantas alegrías y satisfacciones. Siempre estaré orgulloso de ti.

A LISY Y TOTO: Mis mascotas que me han dado tantos momentos de alegría.

## AGRADECIMIENTOS

A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO Y A LA FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN: Por haberme dado la oportunidad de formar parte de ellas.

Dr. Carlos Ignacio Soto Zárate: Por tener confianza en mí para la realización de este trabajo, por el apoyo y disponibilidad que tuvo siempre para que este trabajo se culminara así como por brindarme su amistad. ¡GRACIAS!

Dr. Juan Carlos del Río García: Por su valiosa atención y dedicación para la revisión de este trabajo. ¡GRACIAS!

MVZ. Olivia Adams Vázquez: Por su tiempo dedicado para la revisión de este trabajo por su apoyo y por su colaboración en la redacción del mismo. ¡GRACIAS!

Dra. María Leonor Quintero Mora: Por sus opiniones que realizó para la redacción de este trabajo y por lo accesible que fue siempre para que el presente trabajo se concretara. ¡GRACIAS!

MVZ. Emilio López Rodríguez.: Por sus consejos, opiniones, por el gran apoyo que siempre me ha dado cuando lo he necesitado, por transmitirme sus conocimientos y por brindarme su amistad. ¡GRACIAS!

Dr. Miguel Ángel Cornejo Cortés: Por todo el apoyo que recibí para que este trabajo se realizara, por sus valiosas opiniones y aportaciones. ¡GRACIAS!

M.C. Crisoforo Mercado Márquez: Por sus opiniones y observaciones que realizó para el trabajo.

M.F. Germán I. Garrido Fariña: por su colaboración en la preparación y tinción de los cortes histológicos.

Dra. Yolanda Romero Sánchez: Por su apoyo para la tinción de cortes histológicos.

Mi especial agradecimiento para el MVZ. Hugo César López Farías por que tú fuiste pieza fundamental para la realización de este trabajo, por tu esfuerzo, tiempo, dedicación, apoyo incondicional, paciencia y sobre todo por tu gran amistad. Sabes que siempre contarás conmigo. ¡MUCHAS GRACIAS!

A todos aquellos profesores que a lo largo de mi trayectoria académica han aportado sus conocimientos para mi formación como profesionista.

A mis compañeros y amigos de generación: Antonio (panque), Eduardo (chuchín), Cesar (click), Daniel (chivo, combi, michelín etc.etc.), Carlos (carita), José (choche), Javier (mayito), Gerardo (pollino), Violeta (güera), Liz (ma'sita), Hortencia (tencha), Sac Nichte, Maribel, Gloria y perdón si olvide a alguien; con los cuales disfrute muchos momentos y los cuales me apoyaron durante la carrera.

Armando Castañeda: por tu apoyo incondicional que me has dado siempre por compartir conmigo tus experiencias y conocimientos, por tantos momentos que hemos compartido y por demostrarme tu amistad. GRACIAS FISH!!!

Leticia Ruiz: Por ser una buena compañera, por tu tiempo aportado para la realización de este trabajo y por tu amistad. ¡GRACIAS LENTY!

A todos aquellos seres que dieron la vida para la realización de este trabajo así como todos aquellos que me ayudaron para mi enseñanza académica. ¡MUCHAS GRACIAS!

El presente trabajo fue apoyado por el proyecto PAPIIT “Estudio comparativo de los rearrreglos del citoesqueleto en células RK13 y enterocitos del conejo durante la infección de *Escherichia coli* enteropatógena para conejo (REPEC)”, clave 1N203106-3 y por la Cátedra de Investigación “Morfología Veterinaria y Biología Celular”, clave PACIVE CONS105.

## ÍNDICE

ÍNDICE.....	1
RESUMEN.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
OBJETIVOS.....	8
MATERIALES Y METODOLOGÍA.....	9
RESULTADOS.....	15
FIGURAS.....	19
DISCUSIÓN.....	30
CONCLUSIONES.....	32
BIBLIOGRAFÍA.....	33

## RESUMEN

En el presente trabajo se realizó la descripción microscópica de las características morfológicas de las válvulas cardiacas afectadas por la enfermedad valvular degenerativa en perros, con esto se proporcionan los elementos que permiten diferenciarlas de una válvula normal.

Para la obtención de las muestras se utilizaron 14 perros de raza indefinida de las siguientes edades: 1 de 6 meses (control, ya que macroscópicamente no se apreció ningún grado de afectación), 1 de 2 años, 2 de 3 años, 1 de 5 años, 3 de 6 años, 1 de 7 años, 1 de 9 años, 2 de 10 años, 1 de 12 años y 1 de 13 años, estos ejemplares se obtuvieron a partir de donaciones del centro de control canino del Municipio de Cuautitlán, en el Estado de México. Mediante disecciones sistemáticas se recolectaron las muestras biológicas de las válvulas cardiacas, se procesaron utilizando el método de inclusión en parafina y se tiñeron con las técnicas de coloración de Hematoxilina-Eosina (HE), Tricrómica de Gomori, Verhoeff contrastada con Van Gieson, Ácido Peryodico de Schiff (PAS), Rojo Congo y Azul de Alciano, con el fin de determinar la naturaleza química del material precipitado presente en las válvulas afectadas y, por otra parte, la presencia de fibras elásticas.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes: todos los perros mayores de 2 años de edad mostraron cambios en la estructura de las válvulas, dichos cambios afectaron a ambas porciones; fibrosa y esponjosa (presencia de glucoproteínas, hiperplasia y desorganización tisular); el grado de afectación fue diferente de acuerdo a la edad del perro. A diferencia de lo señalado en la literatura, en ninguno de los cortes evaluados se encontró ni proliferación, ni desprendimiento del endotelio. Los hallazgos más evidentes fueron, la presencia de material amorfo precipitado en el espacio intersticial e hiperplasia, estos hallazgos se localizaron afectando a ambas porciones de las válvulas. Asimismo, estos cambios patológicos indujeron la percepción de desorganización tisular ya que resultaba difícil distinguir la porción fibrosa de la esponjosa. El material precipitado sólo fue teñido con la técnica de Azul de Alciano por lo que se puede señalar que se trata de glucoproteínas.

## INTRODUCCIÓN

La estructura anatómica que regula el flujo de sangre, a través del orificio mitral, se denomina aparato o complejo mitral. La función del Complejo Mitral, es la de mantener la válvula ampliamente abierta durante la diástole para permitir el correcto llenado del ventrículo y cerrar el orificio atrioventricular, con el fin de evitar el reflujo de la sangre durante la sístole ventricular (Mucha, 2007).

Los elementos anatómicos que componen el Aparato Mitral son:

- Pared caudal de la aurícula izquierda.
- Anillo valvular mitral.
- Válvula mitral (atrioventricular izquierda).
- Cuerdas tendinosas.
- Músculos papilares.
- Pared libre del ventrículo izquierdo (Mucha, 2007).

El correcto funcionamiento del Aparato Mitral, va a depender de una compleja y coordinada acción de sus componentes, y cualquier afección de alguno de ellos producirá una insuficiencia mitral, lo que dará por resultado la regurgitación de sangre desde el ventrículo al atrio izquierdo, en cada ciclo cardiaco (Mucha, 2007).

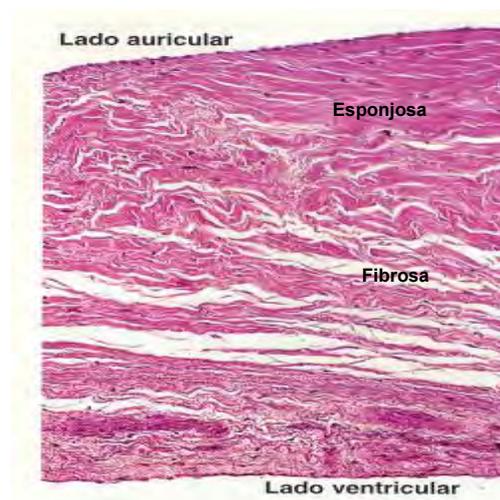
Las válvulas cardíacas están fijadas al complejo esqueleto de tejido conjuntivo denso no modelado que forma los anillos fibrosos y rodea los orificios atrioventriculares, aórtico y pulmonar (Esqueleto cardiaco). Histológicamente cada válvula se compone de las siguientes capas (Figura 1) (Ross y col., 2005):

1. Superficie auricular. Es la porción que se continua con el atrio y tiene un revestimiento endotelial (epitelio simple escamoso) (Mucha, 2007).
2. Fibrosa. Forma el centro de cada valva y contiene extensiones fibrosas del tejido conectivo colágeno compacto irregular de los anillos fibrosos del esqueleto cardiaco (Ross y col., 2005; Stacey, 2007; Mucha, 2007).

3. Esponjosa. Está formada por el tejido conjuntivo colágeno laxo ubicado en el lado auricular, vascular o ambos de cada válvula. Consiste en fibras colágenas y elásticas de disposición laxa separadas por una gran cantidad de proteoglicanos. La esponjosa actúa como un amortiguador ya que reduce las vibraciones asociadas con el cierre de la válvula (Ross y col., 2005; Stacey, 2007; Mucha, 2007).

También confiere flexibilidad y plasticidad a las valvas. En las válvulas aórtica y pulmonar, la esponjosa ubicada del lado del vaso sanguíneo recibe el adjetivo arterial (en latín: *spongiosa arterialis*). Es el equivalente del tejido conjuntivo colágeno laxo ubicado en el lado auricular de las válvulas atrioventriculares (tricúspide y mitral) que recibe el adjetivo auricular (en latín: *spongiosa auricularis*) (Ross y col., 2005).

4. Superficie ventricular. Está justo contigua a la pared del ventrículo y tiene un revestimiento endotelial (epitelio simple escamoso). Contiene tejido conectivo colágeno compacto con muchas capas de fibras elásticas. En las válvulas atrioventriculares (A-V) la capa ventricular se continúa con las cuerdas tendinosas, que son finos cordones fibrosos también revestidos por endotelio. Estas cuerdas se extienden desde el borde libre de las válvulas A-V hacia proyecciones musculares de la pared de los ventrículos llamadas músculos papilares (Banks, 1996; Geneser, 2000; Ross y col., 2005; Stacey, 2007; Mucha, 2007).



**Figura 1.** Fotomicrografía de la válvula mitral (Tomada y modificada de Ross y col., 2005).

Las valvas o cúspides de las válvulas normalmente son avasculares. Sólo en la base de la valva hay vasos sanguíneos y músculo liso. Las superficies valvulares están expuestas a la sangre y las valvas son suficientemente delgadas como para permitir que las sustancias nutritivas y el oxígeno se difundan desde la sangre (Ross y col., 2005)

De las enfermedades que afectan a las válvulas del corazón, algunas producen su degeneración (p. ej., calcificación, fibrosis) y causan un mal funcionamiento cardiaco por insuficiencia o estenosis de los orificios valvulares. Entre estos trastornos, agrupados en forma colectiva bajo la denominación de enfermedades valvulares cardíacas o valvulopatías cardíacas, se encuentran la cardiopatía reumática, la endocarditis vegetante, la estenosis valvular aórtica calcificada degenerativa, la calcificación anular mitral y la enfermedad valvular degenerativa (Ross y col., 2005).

La enfermedad valvular degenerativa es la lesión cardiovascular más común en los perros y se encuentra más frecuentemente como un hallazgo incidental a la necropsia. Las válvulas atrioventriculares distorsionadas y encogidas se ven con mayor frecuencia en los machos de determinadas razas, tales como el Poodle, el Schnauzer, Chihuahua, Doberman pinscher, Fox terrier, Boston terrier y Cocker spaniel. Los perros de la raza Cavalier King Charles Spaniel presentan una especial predisposición a este proceso, de tal manera que aparece incluso a edades tempranas. La incidencia de la enfermedad aumenta con la edad, desde aproximadamente un 5% en animales menores de 1 año de edad, hasta un 75% en perros de 16 años de edad (Patrick y Owens, 1987; Jubb y col., 1991; Swenson y col., 1996; Mike y Corcovan, 1999; Karlstam y col., 2000; Talavera y col., 2001; Fidalgo y col., 2003; Mucha, 2007).

La enfermedad valvular degenerativa afecta principalmente a la válvula atrioventricular izquierda (Bicúspide o Mitral); la válvula atrioventricular derecha es afectada con menor frecuencia y severidad y, sólo ocasionalmente, resultan afectadas las válvulas pulmonar y/o aórtica. En la enfermedad valvular degenerativa, las cúspides atrioventriculares están acortadas y engrosadas. El engrosamiento de la hojuela puede ser más o menos uniforme con un borde redondeado o con engrosamientos nodulares prominentes que afectan el borde libre. Las válvulas están opacas y blancas, pero la superficie es lisa y brillante, sin ninguna evidencia de inflamación. Las cuerdas tendinosas también pueden estar engrosadas y, ocasionalmente, están rotas, lo cual

permite la eversión de la hojuela hacia el atrio y conducir al fallo ventricular agudo (Jubb y col., 1991; Mike y Corcovan, 1999; Talavera y col., 2001).

En las primeras etapas de la enfermedad, el alargamiento de las cuerdas tendinosas y la laxitud del tejido valvular, produce un prolapso mitral, sin regurgitación. Luego con la evolución del proceso hay una falla en la coaptación de las valvas y comienza el reflujo de sangre del ventrículo hacia el atrio izquierdo, que producirá el signo cardinal de esta enfermedad, el soplo (Atkins, 1995).

La progresión de las lesiones ha permitido la clasificación de este padecimiento en tres clases por Kogure (1980). En la clase I las lesiones empiezan como pequeños nódulos bien definidos a lo largo del borde de las hojas que aumentan de tamaño hasta fusionarse y formar grandes deformidades hacia los bordes libres. En la clase II, los bordes libres están engrosados y se vuelven más irregulares y más gruesos a medida que avanza la enfermedad. Parte de la zona rugosa de las cuerdas tendinosas se engrosa en el punto de unión a las hojas valvulares. En la clase III los bordes de las hojas están muy engrosados y presentan nodulaciones. El engrosamiento se extiende en dirección a la base de las hojas y las afecta por completo o en parte y parecen tener un exceso de tejido, lo que puede hacer que parte del tejido engrosado se prolapse hacia el atrio izquierdo. Las cuerdas tendinosas de la zona rugosa se engrosan y pueden llegar a detectarse cuerdas rotas que hacen que las hojas valvulares se agiten sin control. En perros con lesiones de clase III las cuerdas tendinosas de la válvula septal también se alargan (Kogure, 1980).

### **Apariencia microscópica**

Los cambios histopatológicos más tempranos se observan en el lado auricular de las válvulas. Hay proliferación y desprendimiento del endotelio, un aumento en el número de fibroblastos y macrófagos subendoteliales y división y separación de las fibras elásticas entre la superficie auricular y el subendocardio. El subendocardio está muy engrosado por la proliferación de tejido conectivo colágeno laxo y el depósito de ácido mucopolisacárido, este último está compuesto por ácido hialurónico y condroitín sulfato (Andrade, 1982; Jubb y col., 1991; Fidalgo y col., 2003).

No se conoce la causa de la enfermedad valvular degenerativa. Pueden ser una degeneración influida genéticamente del tejido conectivo, particularmente del colágeno, deficiencias nutricionales, desordenes metabólicos, o anormalidades inmunológicas. Esto está apoyado por la observación de que las razas más frecuentemente afectadas con la enfermedad valvular degenerativa son del tipo condrodistrófico. Hay una similitud sorprendente de la enfermedad valvular degenerativa con el síndrome de la válvula mitral prolapsada de los seres humanos. El prolapso de la válvula mitral se produce en asociación con desórdenes del tejido conectivo tales como el síndrome de Marfan, el síndrome Ehlers-Danlos, la osteogénesis imperfecta y diversas distrofias musculares (Patrick y Owens, 1987; Jubb y col., 1991; Mike y Corcovan, 1999; Fidalgo y col., 2003; Häggström y col., 2004; Tidholm y Jönsson, 2005).

A la enfermedad valvular degenerativa se le conoce también como endocardiosis, aunque los términos más utilizados y más apropiados, por la condición de la enfermedad, son: degeneración valvular mucoide o transformación mixomatosa de las válvulas atrioventriculares, esto se debe a que el tejido adquiere la apariencia de tejido mesenquimatoso embrionario (Jubb y col., 1991; Mucha, 2007), enfermedad degenerativa de la válvula mitral (Abbott, 2000; Häggström y col., 2004), o valvulopatía mitral adquirida crónica del perro (Talavera y col.; 2001).

### **Justificación**

A pesar de que en todos los textos consultados se señala que es el padecimiento cardíaco más común en los perros, no existe correspondencia cuando se quieren conocer los detalles histopatológicos de las lesiones y la naturaleza estructural de los elementos degenerativos que se depositan en las lesiones. Por otra parte, también es importante señalar que existe otro padecimiento, la displasia valvular, que macroscópicamente tiene la misma apariencia que la enfermedad valvular degenerativa y, sin embargo, al microscopio se observa que son eventos totalmente distintos. Con este trabajo se busca contribuir al conocimiento de este padecimiento mediante una descripción amplia y detallada de las lesiones, así como la obtención de imágenes provenientes de cortes procesados con diferentes métodos de tinción.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General:**

Describir el aspecto microscópico de las lesiones presentes en las válvulas cardíacas afectadas por la enfermedad valvular degenerativa.

### **Objetivos Particulares:**

- a. Señalar las diferencias entre la apariencia microscópica de una válvula normal y una válvula con degeneración.
- b. Identificar microscópicamente las lesiones relacionadas con la enfermedad valvular degenerativa.
- c. Describir e ilustrar las lesiones encontradas en las válvulas afectadas.
- d. Identificar la naturaleza de los componentes estructurales presentes en las válvulas afectadas mediante la aplicación de diferentes técnicas de coloración.

## MATERIALES Y METODOLOGÍA

### A) Toma de muestras

- a) Para la obtención de las muestras biológicas se utilizaron 14 perros de raza indefinida de las siguientes edades: 1 de 6 meses (control, ya que macroscópicamente no se apreció ningún grado de afectación), 1 de 2 años, 2 de 3 años, 1 de 5 años, 3 de 6 años, 1 de 7 años, 1 de 9 años, 2 de 10 años, 1 de 12 años y 1 de 13 años, estos ejemplares se obtuvieron a partir de donaciones del centro de control canino del Municipio de Cuautitlán, en el Estado de México.
- b) A cada uno de los canideos se les realizó eutanasia con una sobredosis de pentobarbital sódico (Anestosal<sup>MR</sup> Pfizer) de 56 mg por kg de peso, por vía intravenosa, previa tranquilización con xilacina al 2% (Procin<sup>MR</sup> Pisa) a una dosis de 1.1 mg por kg de peso, por vía intramuscular (Booth y McDonald, 1988).
- c) Mediante disecciones sistemáticas se recolectaron las muestras biológicas de las válvulas cardiacas.
- d) Las muestras biológicas se colocaron en reactivo fijador de Bouin durante 24 horas y posteriormente se mantuvieron en etanol al 70% (Luna, 1968).

### B) Procesamiento de la muestra mediante el método de inclusión en parafina.

- a) Las muestras se lavaron con agua corriente por 10 minutos.
- b) Las muestras se deshidrataron con inmersiones crecientes de alcohol etílico, (70°, 80°, 90°, 96° y 100°) por 2 cambios en cada uno de los alcoholes. Las muestras se dejaron por 15 minutos en cada graduación; en cada cambio el alcohol se calentó en un horno de microondas (45° a 55° durante 2 minutos).
- c) Las muestras se sumergieron en monómero de estireno (Poliformas<sup>MR</sup>) por 24 horas a temperatura ambiente.
- d) Las muestras se infiltraron en parafina (Paraplast<sup>MR</sup>) a 60° C durante 2 horas, dos cambios.
- e) Las muestras se incluyeron en parafina a 60° C, mediante el uso de rejillas de aluminio que sirvieron como molde para formar los cubos de parafina.

- f) A partir de los bloques obtenidos después de la infiltración y la inclusión de las muestras se obtuvieron cortes de 5  $\mu\text{m}$  de espesor con un micrótopo modelo RM 820 (Leica). Es importante señalar que de cada bloque de parafina obtenido (correspondiente a una muestra) se obtuvieron 6 cortes semiseriados de cada porción de la muestra.
- g) Los cortes histológicos se montaron en portaobjetos de vidrio (Lauka), con ayuda de un baño de flotación para tejidos (Chicago surgical & Electrical) y de una platina térmica (Clinical Scientific Equipment).
- h) Para la coloración de los preparados permanentes se emplearon las técnicas de hematoxilina – eosina (HE), ácido peryódico de Schiff (PAS), Tricrómica de Gomori, Rojo Congo y Verhoeff contrastada con Van Gieson.

### **Coloración de las preparaciones histológicas**

**C. Método de hematoxilina y eosina (HE)** (Luna, 1968). La coloración de HE es una coloración bicrómica que usa la hematoxilina como colorante básico para las estructuras ácidas y la eosina como colorante ácido para las estructuras básicas. Las fibras elásticas se tiñen débilmente de rosa, la colágena de rosa más intenso y los núcleos de color morado.

- a) Los cortes se colocaron en xileno durante 15 minutos, dos veces.
- b) Se rehidrataron en concentraciones decrecientes de alcohol etílico (100°, 96°, 90°, 80°, 70°) con dos cambios de 3 minutos cada uno.
- c) Se lavaron en agua destilada durante 2 minutos.
- d) Se tiñeron con el colorante de Hematoxilina durante 15 minutos.
- e) Se lavaron en agua corriente.
- f) Se colocaron en alcohol ácido durante 5 segundos.
- g) Se lavaron en agua corriente.
- h) Se colocaron en carbonato de litio durante 1 minuto.
- i) Se tiñeron en el colorante Eosina durante 10 minutos.
- j) Se deshidrataron en alcohol etílico de 96° durante 3 minutos, dos veces.
- k) Se deshidrataron en dos pasos de alcohol absoluto; por 3 minutos en cada uno de ellos.
- l) Se realizaron dos pasos de xileno por 5 minutos en el primero y por 15 minutos en el segundo.

- m) Se cubrió la preparación con resina sintética y un cubreobjetos.
- n) Se observó con el microscopio compuesto de campo claro, y se realizó la evaluación respectiva.

**D. Método de prueba para PAS (Ácido Peryódico de Schiff)** (Drury y Wallington, 1967; Gaete, 1996).

FUNDAMENTO: El ácido periódico rompe por oxidación las uniones entre dos carbonos, de los grupos químicos glicol 1-2, hidroxil-1, aminorio-2, hidroxil alquilamina-2 y cetona-2, haciendo aparecer grupos aldehídicos, que forman con el reactivo de ZIF un producto de condensación de color púrpura.

RESULTADOS: Los glúcidos, ciertas proteínas, lipopigmentos y glucolípidos aparecen de un color rojo violáceo

Los resultados son:

Sustancias positivas a PAS se colorean de color rojo o magenta.

- a) Los cortes se colocaron en xileno durante 15 minutos, dos veces.
- b) Se rehidrataron en concentraciones decrecientes de alcohol etílico (100°, 96°, 90°, 80°, 70°) con dos cambios de 3 minutos cada uno.
- c) Se lavaron en agua destilada durante 2 minutos.
- d) Se lavaron en agua corriente durante 3 minutos.
- e) Se colocaron en ácido peryódico durante 10 minutos.
- f) Se lavaron en agua destilada durante 5 minutos.
- g) Se tiñeron en reactivo de Schiff durante 20 minutos.
- h) Se rehidrataron en ácido sulfúrico con tres cambios de 2 minutos cada uno.
- i) Se lavaron en agua corriente durante 3 minutos.
- j) Se tiñeron con el colorante de Hematoxilina durante 10 minutos.
- k) Se lavaron en agua corriente durante 5 minutos.
- l) Se colocaron en carbonato de litio durante 1 minuto.
- m) Se lavaron en agua destilada durante 5 minutos.

**E. Metodo de Gomori** (Drury y Wallington, 1967; Gaete, 1996).

FUNDAMENTO: Coloración nuclear, por una laca de hematoxilina directa progresiva; coloración de estructuras acidófilas, con dos colorantes ácidos: cromotropo 2R y verde luz.

**RESULTADOS**

Fibras musculares: rojo.

Colágena: verde.

Núcleos: azul a negro.

- a) Los cortes se colocaron en xileno durante 15 minutos, dos veces.
- b) Se rehidrataron en concentraciones decrecientes de alcohol etílico (100°, 96°, 90°, 80°, 70°) con dos cambios de 3 minutos cada uno.
- c) Se lavaron en agua destilada durante 2 minutos.
- d) Se tiñeron con el colorante de Hematoxilina durante 10 minutos.
- e) Se lavaron en agua corriente durante 5 minutos.
- f) Se colocaron en carbonato de litio durante 25 minutos.
- g) Se lavaron en agua corriente durante 2 minutos.
- h) Se lavaron en agua destilada durante 5 minutos.

**F. Tinción de Verhoeff, contrastada con la tinción de Van-Gieson** (Drury y Wallington, 1967; Mallory y col, 1990).

Esta técnica es específica para la demostración de las fibras elásticas del tejido conectivo. El tejido es sobreteñido con una mezcla de hematoxilina férrica, yoduros y cloruros, estos últimos sirven como mordentes. El mecanismo de tinción probablemente está dado por la formación de puentes de hidrógeno entre la hematoxilina y algunos grupos químicos del tejido. Este método es regresivo y para la diferenciación se utiliza cloruro férrico. Como el tejido elástico tiene una fuerte afinidad por el complejo de la hematoxilina férrica retiene este colorante más tiempo que los demás elementos tisulares.

La solución de Van Gieson utiliza fucsina ácida y como mordente ácido pícrico; esto por la selectividad que tiene por las fibras de colágena I, se usa comúnmente como contraste en este método.

- a) Se colocaron las preparaciones histológicas en xileno durante 15 minutos, dos veces.
- b) Se rehidrataron las muestras en concentraciones decrecientes de alcohol etílico (100°, 96°, 90°, 80°, 70°) con dos cambios de 3 minutos cada uno.
- c) Se lavaron en agua destilada durante 2 minutos.
- d) Se colocaron en la solución de trabajo de Verhoeff por 60 minutos, hasta que los cortes estuvieron uniformemente teñidos de negro.
- e) Se lavaron con agua y se diferenciaron con la solución de Verhoeff.
- f) Se lavaron en agua destilada durante 1 minuto.
- g) Se trataron con la solución aclaradora durante 2 minutos para remover el colorante de yodo de fondo.
- h) Se lavaron en agua corriente durante 5 minutos.
- i) Se contrastaron con la solución de trabajo de Van Gieson durante 2 minutos.
- j) Se colocaron en una solución acuosa de etanol al 95% para iniciar la deshidratación durante 5 minutos.
- k) Se deshidrataron en alcohol absoluto durante 5 minutos.
- l) Se aclararon en xileno durante 15 minutos.
- m) Se cubrieron con resina sintética y un cubreobjetos.
- n) Se observaron con el microscopio óptico y se realizó la evaluación respectiva.

#### **G. Método de Rojo Congo (Drury y Wallington, 1967)**

Esta técnica de coloración es específica para demostrar la presencia de tejido amiloide. El tejido amiloide toma una coloración de rosa intenso a rojo y los núcleos muestran un color azul.

- a) Los cortes se colocaron en xileno durante 15 minutos, dos veces.
- b) Se rehidrataron en concentraciones decrecientes de alcohol etílico (100°, 96°, 90°, 80°, 70°) con dos cambios de 3 minutos cada uno.
- c) Se lavaron en agua destilada.
- d) Se colorearon en 0.5% de Rojo Congo durante 5 minutos.
- e) Se lavaron en agua corriente.
- f) Se contrastó a los núcleos en hematoxilina.
- g) Se lavaron en agua corriente.
- h) Se deshidrataron, aclararon en xileno y se montaron en resina sintética.

**H. Método de Azul de Alciano** (Drury y Wallington, 1967; Propheteb y col., 1994; Gaete, 1996).

Con esta técnica, las mucosubstancias como el ácido hialurónico y las sialomucinas se colorean de color azul oscuro, los núcleos de color rosa a rojo y el citoplasma de color rosa pálido.

**FUNDAMENTO:** El azul de alciano a pH ácido (2.6), se fija sobre grupos ácidos de mucopolisacáridos y glicomucoproteínas, probablemente por enlaces iónicos (formados entre grupos de carga opuesta de las cadenas laterales de los aminoácidos).

**RESULTADOS:** Mucopolisacáridos y glicomucoproteínas ácidas: azul turquesa (ciertos mucopolisacáridos sulfatados también reaccionan).

- a) Los cortes se colocaron en xileno durante 15 minutos, dos veces.
- b) Se rehidrataron en concentraciones decrecientes de alcohol etílico (100°, 96°, 90°, 80°, 70°) con dos cambios de 3 minutos cada uno.
- c) Se lavaron en agua destilada.
- d) Se colocaron en ácido acético al 3% durante 3 minutos.
- e) Se tiñeron con el colorante de Azul de Alciano durante 30 minutos.
- f) Se lavaron con agua corriente durante 10 minutos.
- g) Se lavaron con agua destilada.
- h) Se contrastó con solución Rojo Rápido Nuclear (Kernechtrot) durante 5 minutos.
- i) Se lavaron en agua corriente por 1 minuto.
- j) Se deshidrataron en alcohol etílico de 95° durante 2 minutos, dos veces.
- k) Se deshidrataron en dos pasos de alcohol absoluto; por dos minutos, dos veces cada uno.
- l) Se realizaron dos pasos de xileno por dos minutos.
- m) Se cubrieron con resina sintética y un cubreobjetos.
- n) Se observaron con el microscopio óptico y se realizó la evaluación respectiva.

## **RESULTADOS**

### **A. Perro de seis meses de edad.**

En la preparación teñida con HE se observó que la válvula se encuentra rodeada en ambas superficies por un endotelio en el que no se encontró proliferación, ni desprendimiento. La válvula presenta una porción esponjosa en la que se apreció gran cantidad de tejido conectivo colágeno laxo y una porción fibrosa formada por tejido conectivo colágeno compacto irregular (TCCCI) (fig. 2). No presentó hiperplasia (aumento en la cantidad de células) ni desorganización tisular. Con la tinción de Verhoeff contrastada con Van Gieson se observó la presencia de fibras elásticas (fig. 3). Con la tinción de PAS (Ácido Peryódico de Schiff) (fig. 4), Tricrómica de Gomori, Rojo Congo y Azul de Alciano no se observó ningún cambio en la estructura de la válvula.

### **B. Perro de dos años de edad.**

Con la tinción de HE se observó que la válvula se encuentra rodeada en ambas superficies por un endotelio; esto es, no se encontró proliferación, ni desprendimiento en ningún punto de la válvula. Presenta una porción esponjosa en la que se observó tejido conectivo colágeno laxo, se encontró hiperplasia, pero no desorganización tisular. La porción fibrosa se observó formada por tejido conectivo colágeno compacto irregular. Entre la capa fibrosa y esponjosa se apreció tejido adiposo (figs. 5 y 6). Con la tinción de Azul de Alciano se observó la presencia de glucoproteínas en la capa esponjosa (figs. 7 y 8). Con la tinción de Verhoeff contrastada con Van Gieson se observaron escasas fibras elásticas, con la tinción de PAS, Tricrómica de Gomori y Rojo Congo no se observó ningún cambio en la estructura histológica de la válvula.

### **C. Perros de tres años de edad (2).**

En una de las muestras procesadas, con la tinción de HE se observó que la válvula se encuentra rodeada en ambas superficies por un endotelio en el que no se encontró desprendimiento del mismo. En la porción esponjosa se observó gran cantidad de tejido conectivo colágeno laxo, hiperplasia y desorganización tisular (fig. 9). Con la tinción de Verhoeff contrastada con Van Gieson se observó la presencia de gran cantidad de fibras elásticas en la porción esponjosa (fig. 10). Con la tinción de Azul de Alciano se observó

en la capa esponjosa la presencia de glucoproteínas que también estaba invadiendo a la capa fibrosa (figs. 11 y 12), con la tinción de PAS, Tricrómica de Gomori y Rojo Congo no se observó ningún cambio en la estructura histológica de la válvula; en la segunda muestra se observaron imágenes muy similares a las descritas previamente, sólo que la porción esponjosa no se alcanza a delimitar de la porción fibrosa por la presencia generalizada de glucoproteínas en toda la válvula, esto resultó evidente con la tinción de Azul de Alciano.

#### **D. Perro de cinco años de edad.**

En la laminilla preparada con la tinción de HE se observó que la válvula mantiene su recubrimiento endotelial normal en ambas superficies. Presenta una porción esponjosa y una porción fibrosa difícilmente diferenciables debido a la gran cantidad de tejido conectivo colágeno laxo acumulado dentro de la válvula, no se observó hiperplasia (fig. 13). Con la tinción de Azul de Alciano se observó la presencia de glucoproteínas en la capa esponjosa. Con la tinción de Verhoeff contrastada con Van Gieson se observó la presencia de fibras elásticas, con la tinción de PAS, Tricrómica de Gomori y Rojo Congo no se observó ningún cambio en la estructura histológica de la válvula.

#### **E. Perros de seis años de edad (3).**

En los tres perros de seis años de edad, se observó con la tinción de HE que la válvula está rodeada en ambas superficies por endotelio normal; esto es, en ningún punto se encontró desprendimiento ni proliferación. La porción esponjosa no pudo ser delimitada de la porción fibrosa ya que se encontró la presencia generalizada de tejido conectivo colágeno laxo en la mayor parte de la válvula, observándose así, una desorganización tisular (figs. 14 y 15). Con la tinción de Azul de Alciano se observó la presencia generalizada de glucoproteínas, que impiden diferenciar la porción esponjosa de la porción fibrosa (fig 16). Con la tinción Tricrómica de Gomori, sólo se coloreó el tejido conectivo, lo cual dificulta la delimitación entre ambas porciones (fig. 17). Con la tinción de PAS, Verhoeff contrastada con Van Gieson y Rojo Congo no hubo hallazgos importantes.

#### **F. Perro de siete años de edad.**

Con la tinción de HE se observó que la válvula presenta endotelio en ambas superficies. La porción esponjosa no pudo ser bien delimitada de la porción fibrosa debido a la presencia generalizada de tejido conectivo colágeno laxo en la mayor parte de la válvula, adicionalmente se observó hiperplasia y desorganización tisular (fig. 18). Con la tinción de Azul de Alciano se observó la presencia de glucoproteínas en toda la válvula. Con la tinción de Verhoeff contrastada con Van Gieson se observó la escasa presencia de fibras elásticas. Con la tinción de PAS, Tricrómica de Gomori, Verhoeff contrastada con Van Gieson y Rojo Congo no se encontraron hallazgos importantes.

#### **G. Perro de nueve años de edad.**

Con la tinción de HE se observó que la válvula presenta endotelio en ambas superficies, en ningún punto se encontró desprendimiento del mismo. La porción esponjosa no se delimita bien de la porción fibrosa debido a la presencia de tejido conectivo colágeno laxo en la mayor parte de la válvula; no se observó hiperplasia, pero sí desorganización tisular (fig. 19). Con la tinción de Azul de Alciano se observó la presencia de glucoproteínas en toda la válvula (fig. 20). Con la tinción de Verhoeff contrastada con Van Gieson se observó la presencia de fibras elásticas. Con la tinción de PAS, Tricrómica de Gomori y Rojo Congo no se encontraron hallazgos importantes.

#### **H. Perros de diez años de edad (2).**

Uno de los perros de diez años de edad fue el que presentó las lesiones más severas; con la tinción de HE se constató que la válvula presenta endotelio en toda su superficie. La porción esponjosa no pudo ser delimitada de la porción fibrosa debido a la presencia generalizada de tejido conectivo colágeno laxo y de tejido adiposo en la mayor parte de la válvula; se apreció hiperplasia y desorganización tisular en algunas zonas (figs. 21 y 22). Con la tinción de Azul de Alciano se observó la presencia de glucoproteínas en toda la válvula (figs. 23 y 24), incluso por debajo del endotelio (fig. 25), con la tinción de Verhoeff contrastada con Van Gieson se denotó la presencia de fibras elásticas de diferente aspecto (delgadas y gruesas) (figs. 26 y 27). En el otro caso se encontraron los mismos hallazgos aunque fueron menos evidentes a la observación al microscopio. Con

la tinción de PAS, Tricrómica de Gomori y Rojo Congo no se encontraron hallazgos importantes.

#### **I. Perro de doce años de edad.**

Con la tinción de HE se observó la presencia de endotelio en ambas superficies. La porción esponjosa no se delimita muy bien de la porción fibrosa en algunas zonas debido a la presencia de tejido conectivo colágeno laxo en la mayor parte de la válvula; se apreció hiperplasia y desorganización tisular (figs. 28 y 29). Con la tinción de Azul de Alciano se evidenció la presencia de glucoproteínas en toda la válvula (figs. 30 y 31). Con la tinción de PAS, Tricrómica de Gomori, Verhoeff contrastada con Van Gieson y Rojo Congo no se encontraron hallazgos importantes.

#### **J. Perro de trece años de edad.**

Se observó con la tinción de HE que la válvula presenta endotelio en ambas superficies. La porción esponjosa y la porción fibrosa se observan en buen estado, sólo en algunas zonas se observó hiperplasia y ligera desorganización tisular (fig. 32). Con la tinción de Azul de Alciano se observó la presencia de glucoproteínas en algunas zonas de la válvula (fig. 33). Con la tinción de Verhoeff contrastada con Van Gieson se observó gran cantidad de fibras elásticas. Con la tinción de PAS, Tricrómica de Gomori y Rojo Congo no se encontraron hallazgos importantes.

## FIGURAS

Perro de 6 meses de edad (control)

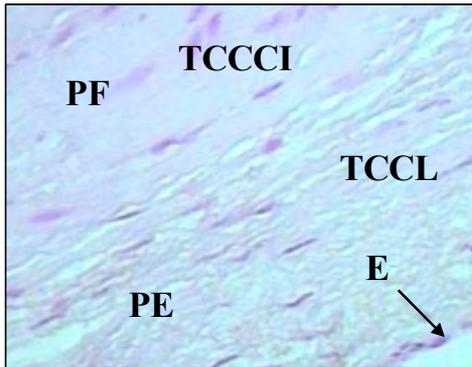


FIG 2

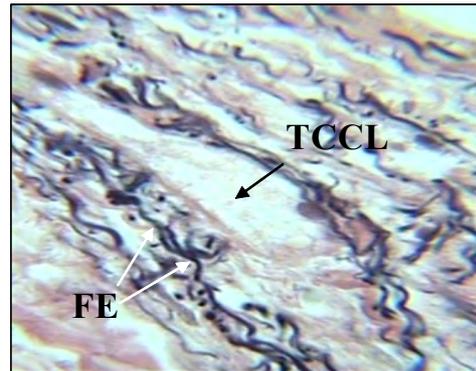


FIG 3

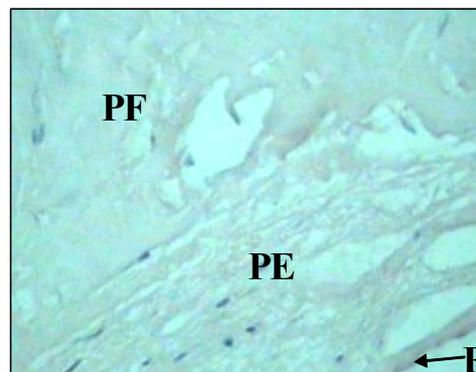


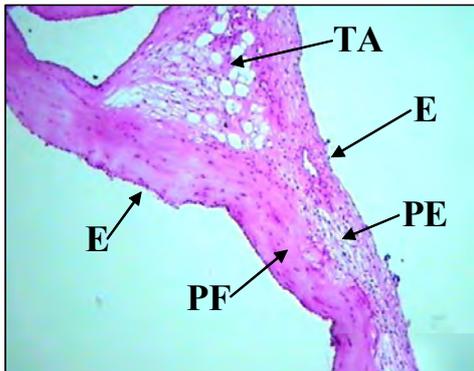
FIG 4

**Figura 2.** En esta imagen se observa la porción esponjosa (PE), constituida por tejido conectivo colágeno laxo (TCCL), la porción fibrosa (PF), constituida por tejido conectivo colágeno compacto irregular (TCCCI) y el endotelio (E), sin alteraciones. (Microscopio óptico, 40x, HE).

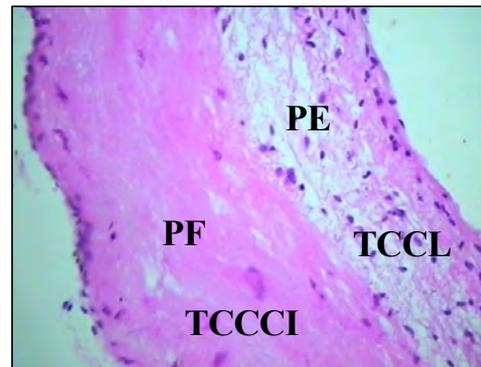
**Figura 3.** Con esta tinción se aprecian las fibras elásticas (FE) en color negro y entre ellas tejido conectivo colágeno laxo (TCCL) de color rosa. (Microscopio óptico, 100x, Verhoeff, contrastada con Van Gieson).

**Figura 4.** En esta imagen no se observan cambios en la estructura general de la válvula E, endotelio; PF, porción fibrosa; y PE porción esponjosa. (Microscopio óptico, 40x, PAS).

**Perro de 2 años de edad**



**FIG 5**



**FIG 6**



**FIG 7**



**FIG 8**

**Figura 5.** En esta imagen se observa la continuidad del endotelio (E) en ambas superficies, así como un acúmulo de tejido adiposo (TA) entre la porción esponjosa (PE) y la porción fibrosa (PF). (Microscopio óptico, 10x, HE).

**Figura 6.** En esta imagen se observa en la porción esponjosa (PE) la presencia de tejido conectivo colágeno laxo (TCCL), y la porción fibrosa (PF), la cual está formada por tejido conectivo colágeno compacto irregular, sin cambios. (Microscopio óptico, 40x, HE).

**Figura 7.** En esta imagen se observa la presencia de glucoproteínas teñidas de color azul (flechas), en las porciones de la válvula, tanto fibrosa como esponjosa. (Microscopio óptico, 10x, Azul de Alciano).

**Figura 8.** En esta imagen se aprecia una gran cantidad de glucoproteínas en las dos porciones de la válvula (flechas). (Microscopio óptico, 40x, Azul de Alciano).

## Perro de 3 años de edad

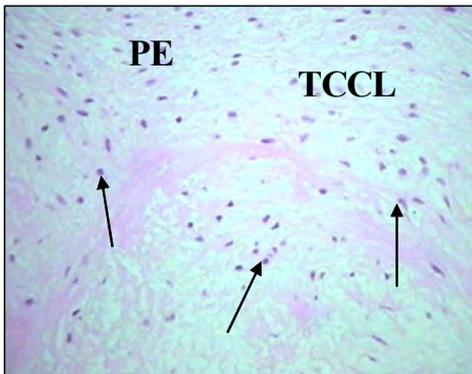


FIG 9

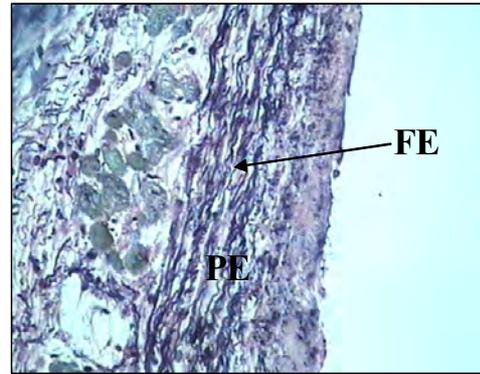


FIG 10



FIG 11

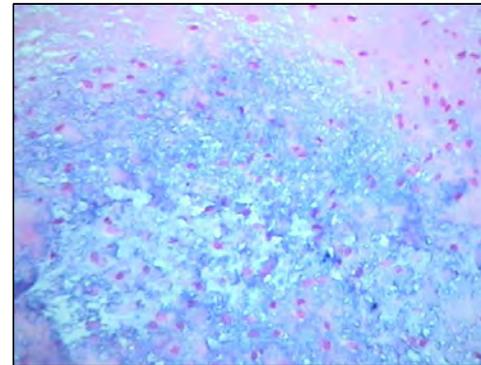


FIG 12

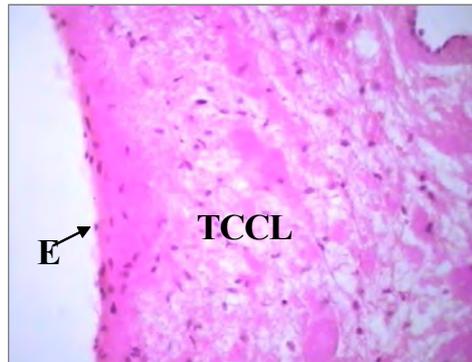
**Figura 9.** En esta imagen se observa que la porción esponjosa (PE) presenta una gran cantidad de tejido conectivo colágeno laxo e hiperplasia (flechas). (Microscopio óptico, 40x, HE).

**Figura 10.** En esta imagen se observa la presencia de gran cantidad de fibras elásticas (FE) localizadas en la porción esponjosa (PE). (Microscopio óptico, 10x, Verhoeff, contrastada con Van Gieson).

**Figura 11.** En esta laminilla se observa gran cantidad de glucoproteínas teñidas de color azul (flecha), lo cual dificulta la delimitación entre la porción esponjosa y la porción fibrosa. (Microscopio óptico, 10x, Azul de Alciano).

**Figura 12.** En esta imagen se observa la presencia de glucoproteínas (color azul) que también están invadiendo a la porción fibrosa. (Microscopio óptico, 40x, Azul de Alciano).

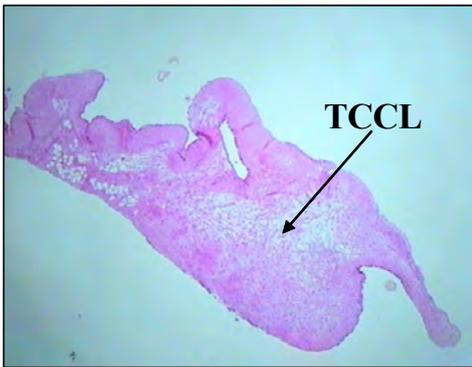
**Perro de 5 años de edad**



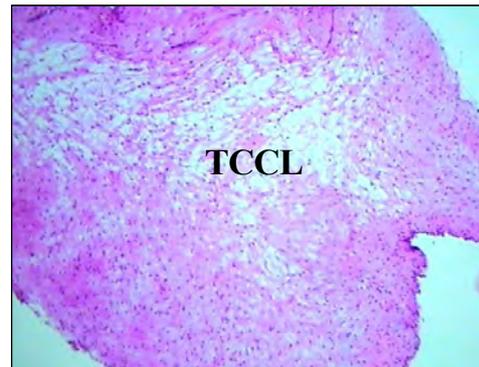
**FIG 13**

**Figura 13.** En esta imagen se observa gran cantidad de tejido conectivo colágeno laxo (TCCL) lo que dificulta la delimitación de ambas porciones de la válvula. El endotelio (E) se observa sin alteraciones. (Microscopio óptico, 40x, HE).

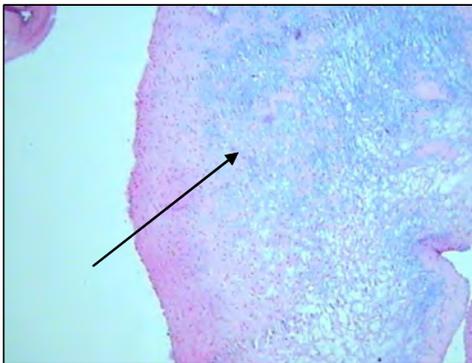
**Perro de 6 años de edad**



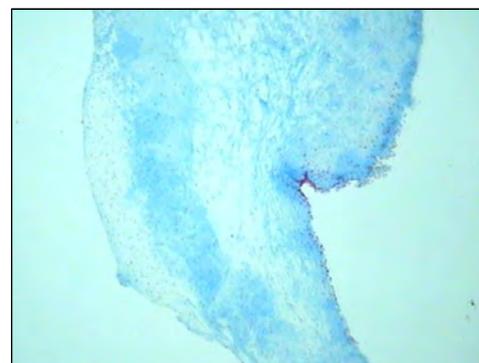
**FIG 14**



**FIG 15**



**FIG 16**



**FIG 17**

**Figura 14.** En esta imagen se observa la presencia generalizada de tejido conectivo colágeno laxo (TCCL) en la mayor parte de la válvula, lo cual no permite diferenciar la porción esponjosa de la porción fibrosa. (Microscopio óptico, 4x, HE).

**Figura 15.** En esta imagen se observa una desorganización del tejido debido a la presencia de gran cantidad de tejido conectivo colágeno laxo (TCCL), lo cual dificulta la delimitación entre la porción esponjosa y la porción fibrosa. (Microscopio óptico, 10x, HE).

**Figura 16.** En esta imagen se observa gran cantidad de glucoproteínas teñidas de color azul (flecha), en la mayor parte de la válvula. (Microscopio óptico, 10x, Azul de Alciano).

**Figura 17.** En esta imagen sólo se observa tejido conectivo, lo cual dificulta la delimitación entre ambas porciones. (Microscopio óptico, 10x, Tricrómica de Gomory).

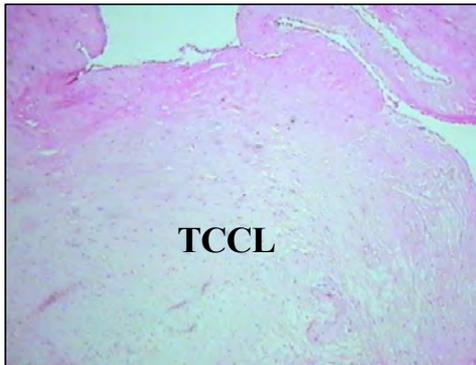
**Perro de 7 años de edad**



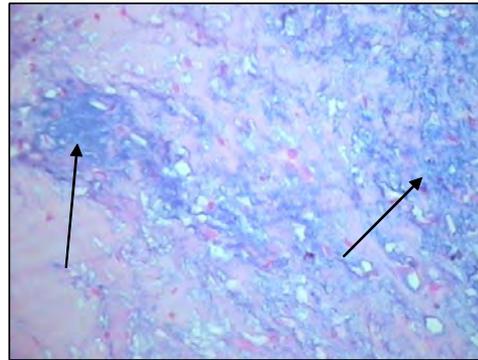
**FIG 18**

**Figura 18.** En esta imagen se observa que la porción esponjosa no se delimita de la porción fibrosa debido a la presencia generalizada de tejido conectivo colágeno laxo (TCCL), apreciándose una desorganización tisular. (Microscopio óptico, 10x, HE).

**Perro de 9 años de edad**



**FIG 19**

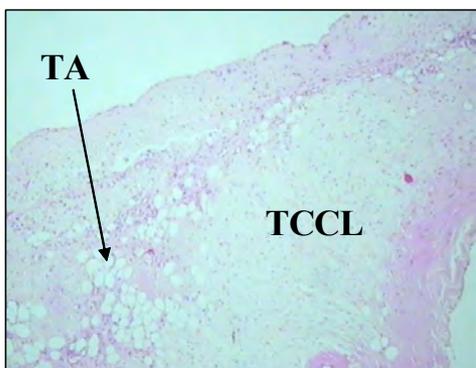


**FIG 20**

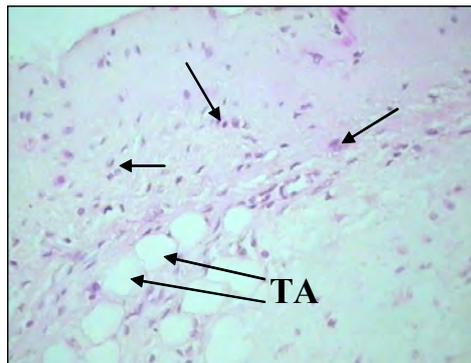
**Figura 19.** En esta imagen se observa desorganización tisular debido a la presencia de tejido conectivo colágeno laxo (TCCL) en la mayor parte de la válvula. (Microscopio óptico, 10x, HE).

**Figura 20.** En esta imagen se observa gran cantidad de glucoproteínas teñidas de color azul (flechas), en la mayor parte de la válvula. (Microscopio óptico, 40x, Azul de Alciano).

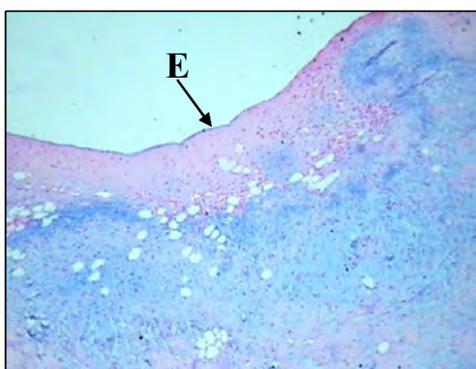
**Perro de 10 años de edad**



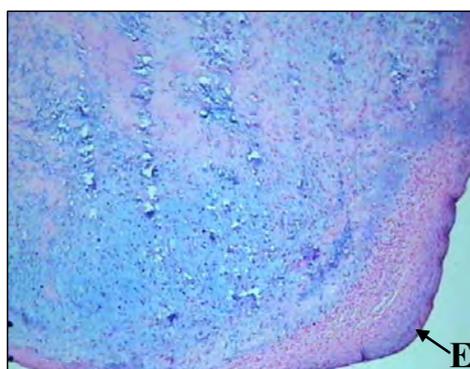
**FIG 21**



**FIG 22**



**FIG 23**



**FIG 24**

**Figura 21.** En esta imagen se observa la presencia generalizada de tejido conectivo colágeno laxo (TCCL), así como de tejido adiposo (TA) en gran parte de la válvula. (Microscopio óptico, 10x, HE).

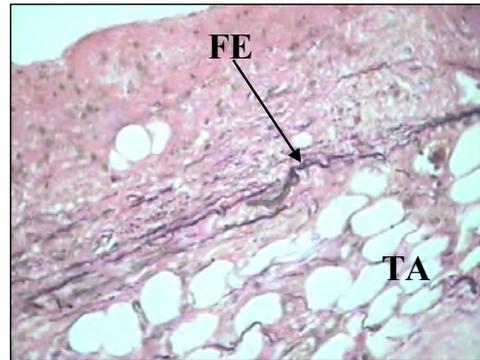
**Figura 22.** En esta imagen se muestra la presencia de tejido adiposo (TA) e hiperplasia (Flechas). (Microscopio óptico, 40x, HE).

**Figura 23.** En esta imagen se observa una gran cantidad de glucoproteínas (azul) en la mayor parte de la válvula. (E, endotelio). (Microscopio óptico, 10x, Azul de Alciano).

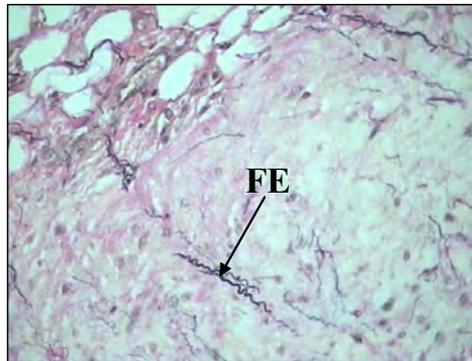
**Figura 24.** Esta imagen muestra la presencia generalizada de glucoproteínas (azul) en la válvula. (E, endotelio). (Microscopio óptico, 40x, Azul de Alciano).



**FIG 25**



**FIG 26**



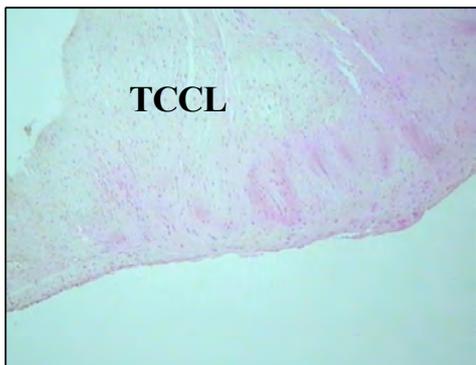
**FIG 27**

**Figura 25.** En esta imagen se observa la presencia de glucoproteínas (azul) por debajo del endotelio. (Microscopio óptico, 100x, Azul de Alciano).

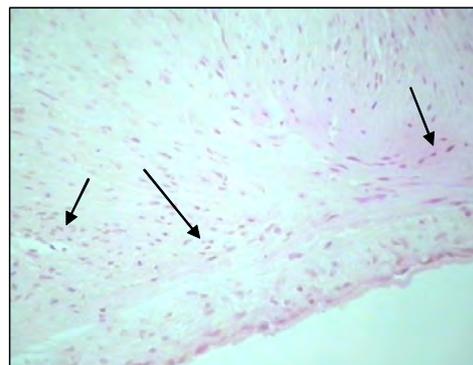
**Figura 26.** En esta imagen se observa la presencia de fibras elásticas (FE) y una gran cantidad de tejido adiposo (TA) en la parte media de la válvula. (Microscopio óptico, 40x, Verhoeff, contrastada con Van Gieson).

**Figura 27.** En esta imagen se observan fibras elásticas (FE) muy finas en la porción compacta, además de la presencia de tejido adiposo. (Microscopio óptico, 40x, Verhoeff, contrastada con Van Gieson).

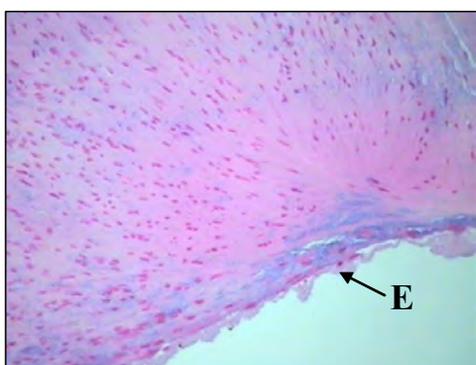
**Perro de 12 años de edad**



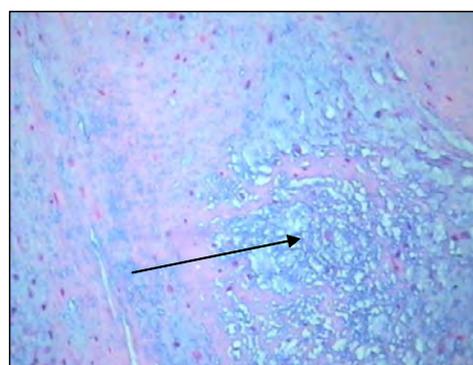
**FIG 28**



**FIG 29**



**FIG 30**



**FIG 31**

**Figura 28.** En esta imagen se observa una desorganización tisular debido a la presencia de gran cantidad de tejido conectivo colágeno laxo (TCCL) ocupando gran parte de la válvula. (Microscopio óptico, 10x, HE).

**Figura 29.** En esta imagen se observa hiperplasia (flechas) en la mayor parte de la válvula, además de desorganización tisular. (Microscopio óptico, 40x, HE).

**Figura 30.** En esta imagen se observa una gran cantidad de glucoproteínas (color azul) presentes en la válvula, incluso por debajo del endotelio (E), además de hiperplasia. (Microscopio óptico, 40x, Azul de Alciano).

**Figura 31.** En esta imagen se observa la presencia de glucoproteínas (color azul) en la mayor parte de la válvula, así como la desorganización tisular presente (flecha). (Microscopio óptico, 40x, Azul de Alciano).

**Perro de 13 años de edad**



**FIG 32**



**FIG 33**

**Figura 32.** En esta imagen se observa el endotelio, la porción fibrosa y la esponjosa en buen estado. (Microscopio óptico, 10x, HE).

**Figura 33.** En esta imagen se observa la presencia de glucoproteínas (color azul) en la porción esponjosa de la válvula, además de algunas zonas con hiperplasia (flechas). El endotelio se observa en buen estado. (Microscopio óptico, 40x, Azul de Alciano).

## DISCUSIÓN

La descripción histológica de las válvulas cardiacas normales reportada por varios autores (Banks, 1996; Geneser, 2000; Ross y col., 2005; Stacey, 2007 y Mucha, 2007) concuerda con lo encontrado en las válvulas revisadas al microscopio; esto es; endotelio (epitelio simple escamoso) en ambas superficies de la válvula, dos porciones; una fibrosa constituida por tejido conectivo colágeno compacto irregular y una esponjosa constituida principalmente por tejido conectivo colágeno laxo.

En todas las válvulas afectadas el endotelio se encontró en buen estado, caso contrario a lo reportado por Häggström y col., (2004) quienes reportan que en la enfermedad valvular degenerativa se presenta proliferación y desprendimiento del mismo.

En cuanto a los cambios observados con la tinción de HE, en las porciones fibrosa y esponjosa tenemos que en la mayoría de las válvulas afectadas es difícil diferenciar una porción de la otra, debido a la gran cantidad de tejido conectivo colágeno laxo que se encuentra distribuido en toda la válvula, lo cual coincide con lo señalado por Mahoney (2007) y Mucha (2007).

Al realizar la observación de los cortes histológicos de las válvulas teñidas con la coloración azul de alciano, se encontró que entre las fibras del tejido conectivo colágeno laxo hay glucoproteínas, encontrando similitud con lo reportado por Andrade, 1982; Jubb, 1991; Abbott, 2000; Fidalgo y col., 2003; Häggström y col., 2004; Mahoney, 2007 y Mucha, 2007.

En este estudio fue posible observar la presencia de fibras elásticas entre las porciones fibrosa y esponjosa (Mahoney, 2007), sólo que para ello se utilizó la técnica de coloración de Verhoeff, contrastada con Van Gieson, con la cual también se logró diferenciar al tejido conectivo.

La presencia de fibras elásticas en las válvulas atrioventriculares es una incógnita ya que no parece estar relacionada ni con la edad, ni con el grado de afectación, sin embargo es necesario desarrollar nuevos estudios con el fin de conocer los datos relacionados con la presencia y función de dichas fibras.

En varios cortes (con todas las técnicas de coloración empleadas) fue posible apreciar tejido adiposo entre las porciones fibrosa y esponjosa, hallazgo que no es señalado por ninguno de los autores consultados.

Al realizar las diferentes técnicas de coloración se pretendió hacer evidente la presencia de los componentes estructurales de las válvulas afectadas. Drury y Wallington (1967) y Luna (1968) mencionan que las técnicas de coloración de PAS, Rojo Congo y Azul de Alciano colorean a las glucoproteínas presentes en los tejidos. Sólo se obtuvieron resultados con la tinción azul de alciano, esto puede estar dado por diferencias en la fracción proteínica que constituye a las glucoproteínas presentes en las válvulas afectadas.

La enfermedad valvular degenerativa en el canino se caracteriza por ser una degeneración progresiva, tiene un componente genético importante y lesiones relacionadas con la matriz extracelular, características que son muy similares a las descritas en el humano, lo cual hace suponer que el canino podría ser un buen modelo en el cual estudiar los aspectos moleculares involucrados en el inicio y progresión de esta enfermedad (Mahoney, 2007).

## CONCLUSIONES

- Se describen los cambios microscópicos observados en las válvulas estudiadas, con lo cual se puede diferenciar una válvula cardíaca normal de otra afectada por la enfermedad valvular degenerativa.
- La técnica de HE permitió observar y analizar la estructura general de las válvulas.
- En ninguno de los cortes estudiados se apreció proliferación, ni desprendimiento del endotelio.
- Con la coloración Tricrómica de Gomori se observó la diferenciación de los tejidos básicos, lo cual permitió observar el daño histológico a nivel del tejido conectivo, pero no fue posible determinar la presencia de glucoproteínas, por lo que fue necesario utilizar otras técnicas específicas de coloración como son; PAS, Azul de Alciano y Rojo Congo.
- Sólo con la tinción Azul de Alciano se observó la presencia de glucoproteínas, este resultado puede estar dado por el tipo de proteínas presentes en las válvulas afectadas por la enfermedad valvular degenerativa.
- Con la coloración de Verhoeff, contrastada con Van Gieson fue posible evidenciar la presencia de fibras elásticas en algunas de las válvulas estudiadas.
- Las lesiones observadas varían con la edad del perro, por lo cual no se pudo determinar una relación entre daño y edad.

## BIBLIOGRAFÍA

Abbott JA (2000) Small Animal Cardiology Secrets. Hanlen & Belfus. Philadelphia. USA. pp. 212-223.

Andrade dos SJ. (1982) Patología Especial de los Animales Domésticos. 2ª edición, Interamericana. México. pp. 302-304.

Arias D., Tórtora M., Cruz A., Klima L., Huzman M., Rodriguez R (2004) ecocardiografía doppler color y evaluación del grado de insuficiencia mitral canina. Analecta Veterinaria. 24 (1): 21-24.

Atkins CE. Acquired valvular insufficiency. In: Miller M, Tilley LP, editors. Manual of Canine and Feline Cardiology. 2<sup>nd</sup>. ed. Philadelphia: WB Saunders, 1995: 129-143.

Banks, WJ. (1996) Histología Veterinaria Aplicada. 2ª Ed. Manual Moderno, México. pp. 390-391.

Booth N. y McDonald L. (1988) Farmacología y terapéutica veterinaria. Vol. 1. 1ª . Ed. Acribia, España.

Drury, RA, Wallington, EA. (1967) Carleton's histological technique. 4a. Ed. Neill. Reino Unido.

Fidalgo ALE, Rejas LJ, Ruiz de GFR, Ramos AJJ. (2003) Patología Médica Veterinaria. España. pp. 438-441.

Gaete BC. Manual de técnicas histológicas e histopatológicas para Médicos Veterinarios Zootecnistas (tesis de licenciatura) FES-CUAUTITLAN, UNAM. 1996.

Geneser F. (2000) Histología. 3ª Edición. Médica Panamericana. España, pp. 393.

Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N. (1991) Patología de los animales domésticos. 3ª Edición. Hemisferio Sur. 3. Uruguay. pp. 17-20.

Karlstam E, Häggström J, Kwart C, Jönsson L, Michaelsson M. (2000) Pulmonary Artery lesions in cavalier King Charles spaniels. *The Veterinary Record*, 147: 166-167.

Kogure K. Pathology of chronic mitral valvular disease in dog. *The Japanese Journal of Veterinary Science* 1980; 42: 323-335.

Häggström J, Pedersen HD, Kwart C. (2004) New insights into degenerative mitral valve disease in dogs. *Veterinary Clinics Small Animal*. 34:1209-1226.

Luna, GL (1968) *Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology*. 3a. Ed. McGraw-Hill, E.U.A.

Mahoney HA. (2007) *Culture and Phenotype of Canine Valvular Interstitial Cells*. College of Veterinary Medicine, Kansas State University.

Mallory, Sheehan y Hrapchak (1990) Verhoeff's elastic stain. En *Histotechnology A self-instructional text*. ASCP Press. E.U.A. Citado en la dirección electrónica [ccm.ucdavis.edu/bcancercd/52/prcl\\_elastic.html](http://ccm.ucdavis.edu/bcancercd/52/prcl_elastic.html)

Mike M y Bronan C. (1999) *Enfermedades Cardiorespiratorias del perro y el gato*. Ediciones. pp. 152-153.

Mucha CJ. (2007) Degeneración Valvular Mixomatosa. *REDVET.* : 2007, VOL. VIII N° 7.

Patrick TL, Owens MJ. (1987). *Manual de Cardiología de los pequeños animales*. Salvat. España. pp. 109-113.

Prophet EB, Mills B, Arrington JB, Sobin LH. (1994). *Armed Forces Institute of Pathology Laboratory Methods in Histotechnology*. Published by the American Registry of Pathology Washington, D.C.

Ross MH, Kaye GI y Pawlina W. (2005). *Histología Texto y Atlas Color con Biología Celular y Molecular*. 4ª Edición. Ed. Médica Panamericana. Argentina.

Stacey EM. Histology for Pathologists. Third Edition. U.S.A. Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business. 2007.

Swenson L., Häggström J., Kvarn C., Juneja R.K. (1996) Relationship between parental cardiac status in Cavalier King Charles spaniel and prevalence and severity of chronic valvular disease in offspring. J.A.V.M.A. 208: 2009-2012.

Tidholm A, Jönsson L. (2005). Histologic Characterization of Canine Dilated Cardiomyopathy. Vet Pathol 42:1-8.

Talavera J., Fernández del Palacio M.J., Agut A., Bayón A. (2001) Valvulopatía mitral adquirida crónica en el perro: correlación entre estadio clínico funcional (ISACHC) y signos radiográficos torácicos. Revista Clínica Veterinaria. Vol. 21 Año 2.