

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y  
ZOOTECNIA**

CUANTIFICACIÓN DE LINFOCITOS Y NEUTRÓFILOS EN  
EPIPLÓN DE PERROS (*Canis familiaris*), SOMETIDOS A  
RESECCIÓN INTESTINAL Y ANASTOMOSIS TERMINO-  
TERMINAL POR CUERPO EXTRAÑO.

TESIS  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

PRESENTA  
**YAHZEEL LÓPEZ COLMENARES**

Asesores:  
MVZ Héctor Villaseñor Gaona  
MVZ Alberto Fouilloux Morales

México, D. F.

2014



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 Dios por ser esa fuerza interna que me guía y me motiva, y por todo lo bueno que hay en mi vida.

A Tom, mi papá, porque mi felicidad siempre ha sido lo más importante para él.

A Charis, mi mamá, porque su amor siempre me ha motivado a seguir adelante.

A Jacob, mi hermano y amigo de toda la vida, por ayudarme a tener los mejores recuerdos de mi infancia.

A San, porque desde que llegó se ha convertido en una gran parte de nuestra familia.

A mi encantadora sobrina y ahijada Amy por mostrarme el amor más divertido y sorprendente que solo conocen los niños.

A toda mi familia y amigos por su infinito cariño y apoyo incondicional, Siempre.

Y por supuesto con mucho cariño a cada una de mis mascotas, en especial a Link.

## **AGRADECIMIENTOS**

A todas las personas que han hecho posible que se realizara este trabajo, en especial a mis profesores con mucho cariño y respeto por compartir toda su sabiduría y experiencia.

A mis compañeros por hacer de este camino a la vida profesional una experiencia maravillosa e inolvidable

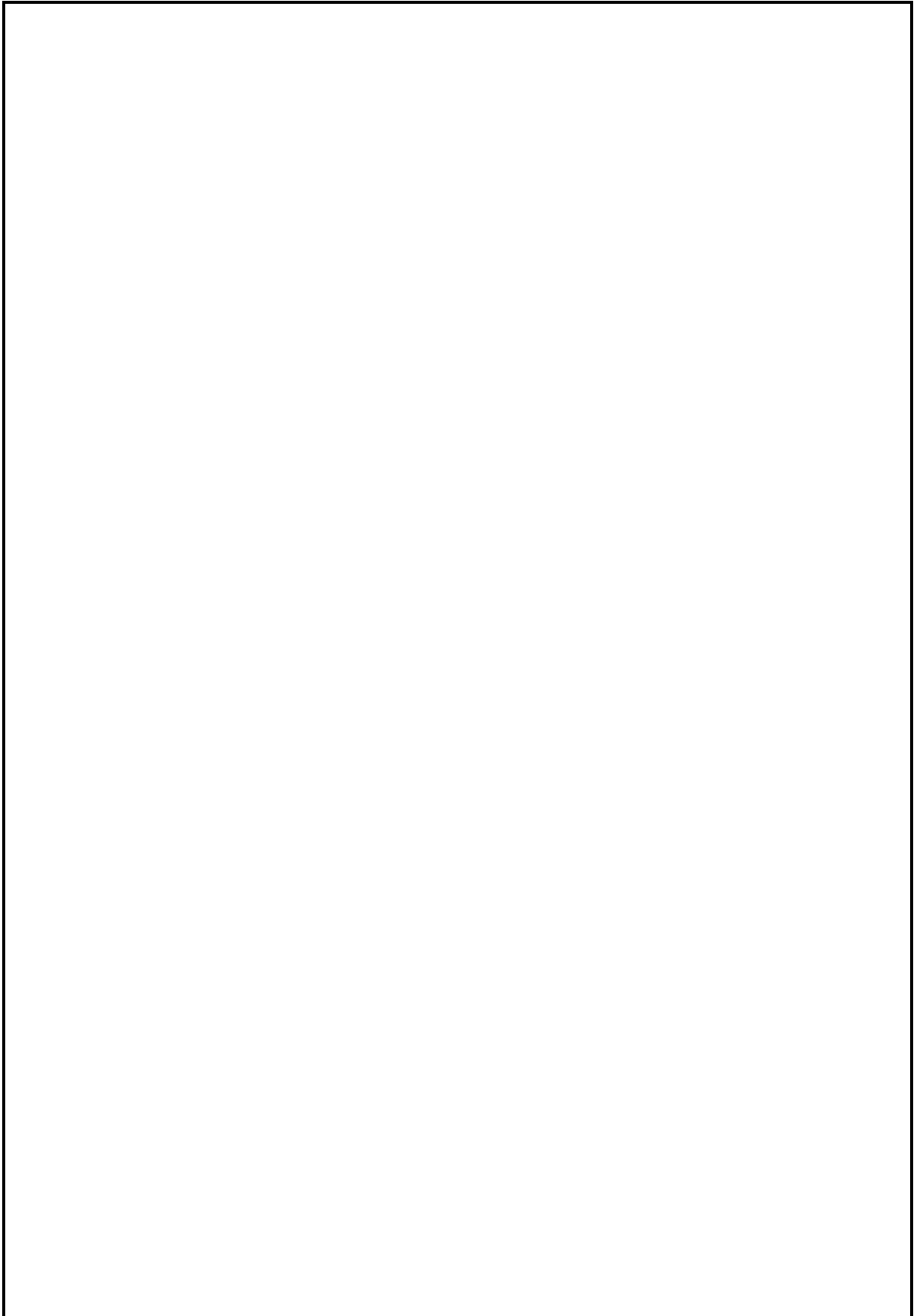
Gracias a mi hermosa facultad por brindarme todo lo necesario para lograr mis metas, te llevo siempre en mi mente.

Un especial agradecimiento al histotécnico Francisco López, por ayuda para procesar las muestras pero sobre todo por su gran calidez humana.



## CONTENIDO

<b>RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>3</b>
<b>HIPÓTESIS</b>	<b>27</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>28</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>29</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>31</b>
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>33</b>
<b>REFERENCIAS</b>	<b>38</b>
<b>FIGURAS</b>	<b>44</b>



## RESUMEN

**LÓPEZ COLMENARES YAHZEEL.** Cuantificación de linfocitos y neutrófilos en epiplón de perros (*Canis familiaris*), sometidos a resección intestinal y anastomosis termino-terminal por cuerpo extraño. (Bajo la asesoría de: MVZ Héctor Villaseñor Gaona y MVZ Alberto Fouilloux Morales).

Descriptores: epiplón, linfocitos, neutrófilos, perro.

El epiplón u omento mayor es una membrana serosa de defensa en la cavidad abdominal, participa de diversas maneras en caso de agresión o alteración que se suscite en dicha cavidad. La absorción y eliminación de líquidos o gases, así como también aislar zonas contaminadas por bacterias le permiten actuar como un mecanismo natural de protección.

Este estudio se realizó con la finalidad de comprender la afluencia de los linfocitos y neutrófilos en el epiplón de perros sometidos a resección intestinal y anastomosis termino-terminal por cuerpo extraño (RIA) para determinar si existen diferencias en comparación con el epiplón de perros sanos.

Se utilizaron 10 perros que presentaron obstrucción intestinal por cuerpo extraño y 10 perros clínicamente sanos como control. Se obtuvieron fragmentos de epiplón del grupo de animales con RIA del área en donde éste se encontraba fusionado a la serosa del intestino, y por otro lado fragmentos de epiplón del grupo control. Dichas muestras se procesaron siguiendo el método de inclusión en parafina y se tiñeron con Giemsa y ácido peryódico de Schiff (PAS).

Para el conteo celular se consideraron los linfocitos y neutrófilos existentes por  $\text{mm}^2$  en el epiplón de ambos grupos. Hubo una diferencia estadística significativa ( $P < 0.0001$ ) del número de neutrófilos en los perros con RIA en comparación con los neutrófilos de los perros sanos. De igual manera, al comparar los linfocitos de los perros sanos con respecto a los linfocitos de los perros con RIA, se observó un incremento mínimo ( $P < 0.05$ ) con la prueba de "t" de Student

Los resultados obtenidos sugieren que los neutrófilos y linfocitos tienen un papel relevante en la dinámica que presenta el tejido conjuntivo ordinario laxo areolar durante el periodo de cicatrización o aislamiento de un órgano con el fin de evitar la posible contaminación o diseminación de una infección dentro de la cavidad abdominal.

## INTRODUCCIÓN

### Cavidad abdominal

El abdomen se extiende desde el diafragma hasta la pelvis y representa la cavidad más grande del cuerpo. Esta cavidad contiene al tubo digestivo, hígado, páncreas, bazo y parte del aparato genitourinario, plexos nerviosos, vasos y nodos linfáticos<sup>(1,2)</sup>.

El diafragma es el límite craneal de la cavidad; las vértebras lumbares y los músculos hipoaxiales forman el límite dorsal; los músculos oblicuos abdominales y transversos abdominales constituyen el límite lateral; una pequeña porción del ala del ileon y la línea terminal delimitan caudalmente; el músculo recto abdominal es el límite ventral de dicha cavidad<sup>(1,2,3)</sup>.

### Generalidades del peritoneo y aspectos morfofuncionales del epiplón

En el organismo existen cuatro serosas: el pericardio, las pleuras (derecha e izquierda) y el peritoneo<sup>(4)</sup>.

El peritoneo es una membrana semipermeable bidireccional capaz tanto de absorción como de exudación o trasudación. Esta membrana permite un libre intercambio entre el líquido peritoneal y el plasma<sup>(2)</sup>. El líquido peritoneal se forma como un dializado de plasma; hay una producción y absorción constante de líquido peritoneal. Este líquido carece de fibrinógeno y no coagula. Su actividad antibacteriana normal es inespecífica además es relativamente acelular, ya que contiene menos de 300 células/mm<sup>3</sup>. Siendo los macrófagos, el tipo celular predominante; también se presenta una pequeña cantidad de células mesoteliales y de linfocitos<sup>(2,5)</sup>. En cuanto a la membrana serosa que conforma al peritoneo, ésta se encuentra constituida histológicamente por una sola capa de células escamosas

de origen mesodérmico, las cuales son soportadas por una capa de tejido conjuntivo ordinario laxo areolar compuesto por glucosaminoglicanos, fibras elásticas y de colágeno<sup>(2)</sup>. Entre las células que alberga el peritoneo, destacan los macrófagos que actúan en procesos fagocitarios y como células presentadoras de antígenos para los linfocitos “T” y “B” los cuales representan las células centrales del sistema inmune que al entrar a la cavidad peritoneal se acumulan rápida y prominentemente. Otras células importantes son los neutrófilos que contienen lisosomas, que participan en la modulación del proceso inflamatorio para generar e inactivar factores quimiotácticos y la migración de los mismos. Además están presentes linfocitos, mastocitos y adipocitos<sup>(2, 5-10)</sup>.

Las membranas serosas funcionan como defensa dentro de la cavidad peritoneal, son responsables de la absorción y eliminación de bacterias además de la debridación<sup>(11)</sup>. Tienen la capacidad de producir y reabsorber fluido seroso y también absorbe aire o gases, como es el caso del bióxido de carbono después de una cirugía laparoscópica<sup>(1)</sup>; además absorbe proteínas y partículas por medio del epiplón<sup>(12)</sup>; el drenaje linfático, los vasos linfáticos colectores y las lagunas de la cavidad peritoneal en perros, es la ruta principal que toman en la depuración de líquido y partículas<sup>(2)</sup> es a través del sistema linfático del diafragma hacia los linfonodos mediastínicos y por último, hacia la pared del ducto torácico y de ahí a la circulación sistémica. Por esta ruta, partículas pequeñas de 10 $\mu$ m de diámetro (las bacterias tienen 0.5 a 2 $\mu$ m y los eritrocitos tienen 7 a 8 $\mu$ m de diámetro) son rápidamente eliminadas de la cavidad peritoneal<sup>(2,9,13,14)</sup>.

Existe un peritoneo llamado parietal que tapiza las cavidades abdominal y parte de la pélvica; otro que es el peritoneo visceral se encuentra encima de los órganos presentes en dichas cavidades e incluso en órganos que abandonan el abdomen a través del canal inguinal para conducirse a la bolsa escrotal (en el caso de los machos). La cavidad peritoneal es un espacio potencial entre los peritoneos parietal y visceral y no contiene órganos, excepto en el momento de la ovulación (en el caso de las hembras); el peritoneo y la fascia transversa se unen conteniendo gran cantidad de depósitos grasos en los animales obesos<sup>(2)</sup>. También está el peritoneo de conexión, que consiste en una lámina doble de peritoneo localizada entre los

órganos o conecta al peritoneo visceral con el parietal, los pliegues peritoneales cubren al mesenterio, ligamentos o a los epiplones. Los mesenterios son ligamentos que sujetan al intestino y se encuentran cubiertos por una serosa peritoneal a través de la cual se distribuyen vasos y nervios al intestino<sup>(1,2)</sup>. El epiplón u omento es un repliegue del peritoneo que une las vísceras entre sí. Se divide en dos partes: el mayor y el menor<sup>(1,3,15)</sup>.

El epiplón mayor está compuesto por tres porciones (cada una presenta una doble lámina peritoneal). La más grande es la porción bursal, fijada craneoventralmente a una parte considerable de la curvatura mayor del estómago. La bursa epiplóica se extiende hacia caudal hasta la vejiga urinaria, cubriendo a los intestinos. El pliegue del epiplón mayor da lugar a un estrato ventral, llamado superficial y a un estrato dorsal, denominado profundo. La bolsa del epiplón (bolsa omental) es un espacio potencial entre estos estratos; es un saco a excepción de su abertura, el orificio epiplóico, limitado en dorsal por la vena cava caudal y hacia ventral por la vena porta<sup>(2,11)</sup>, la interacción del omento dentro de la cavidad pélvica está limitada por la capacidad de llegar y establecer contacto físico con las estructuras que ahí se encuentran<sup>(16)</sup>.

La migración de asas intestinales a través del orificio epiplóico es poco frecuente pero puede provocar una estrangulación intestinal. La porción bursal del epiplón mayor es utilizada en cirugía para la omentalización de heridas y cavidades, ayudando en la revascularización de los tejidos que presentan deterioro de la irrigación y para la resolución de quistes, abscesos y heridas crónicas. Las dos porciones remanentes del epiplón mayor; la porción esplénica que se extiende desde el hilio del bazo para formar el ligamento gastroesplénico. La parte más pequeña de epiplón mayor es la porción en velo que contiene al lóbulo izquierdo del páncreas<sup>(1,2)</sup>.

El epiplón menor es más pequeño y menos complejo que el epiplón mayor está ubicado entre la curvatura menor del estómago y el hilio portal del hígado, continuándose con el mesoduodeno y una parte constituye al ligamento gastrohepático<sup>(2,3,17)</sup>.

Aunque el epiplón mayor es inmóvil inherentemente, se desplaza con el peristaltismo intestinal en el pequeño volumen de líquido peritoneal, esto es de forma restringida, debido a las uniones que existen a partir del mesenterio dorsal y que lo unen a los órganos contiguos. Sin embargo, este sutil desplazamiento es esencial para que el epiplón pueda acceder a superficies dañadas o infectadas donde se adhiere y facilita el proceso de reparación<sup>(1,3,11,12,16,18)</sup>.

Una característica distintiva del epiplón es que, a diferencia de los órganos linfoides secundarios como los linfonodos o el bazo, se expande en respuesta a objetos extraños y proliferan un gran número de células inmunomoduladoras junto a células que funcionan como células madre. Este tipo de respuesta no ha sido reconocida en ningún otro órgano por lo que es única del epiplón. Las subpoblaciones celulares que se reclutan hacia el epiplón, explican como este tejido provee soporte para la cicatrización y regeneración tisular como ha podido observarse en diversos ensayos clínicos<sup>(9,10,19,20,21)</sup>.

Las células activadas por el estroma<sup>(11)</sup>, se implantan en los sitios de lesión dentro de la cavidad peritoneal, independientemente de que las células fagocíticas iniciales encuentren el agente extraño<sup>(18,20,22)</sup>.

Hay dos mecanismos diferentes de reacciones tisulares a las sustancias extrañas. Los materiales insolubles, como metales, liberan productos de corrosión a través de varios medios, y estos son fagocitados por los macrófagos o células gigantes multinucleadas, dependiendo de su tamaño físico. Los materiales absorbibles sintéticos, son degradados por medio de hidrólisis no enzimática; después de ésta y dependiendo del tamaño de la partícula, puede producirse la fagocitosis<sup>(2)</sup>.

Cirugías que llevan tiempo y son complicadas, las manipulaciones indeseadas de tejido, el mayor uso de suturas y la excesiva electrocoagulación, son factores que pueden reducir la resistencia local de las heridas. La anestesia prolongada se ha asociado con un deterioro de la función de los macrófagos: quimiotaxis para neutrófilos, fagocitosis y quimioluminiscencia; la contaminación externa de los fármacos, la inhibición o la estimulación de citocinas, el aumento de linfocitos citotóxicos y detrimento de las funciones quimiotácticas, fagocíticas y oxidativas<sup>(2,23)</sup>.



La actividad fibrinolítica del mesotelio peritoneal se altera en condiciones como trauma, isquemia, e infecciones. El incremento de la permeabilidad vascular, los niveles de fibrinógeno y tromboplastina liberados por el aumento de destrucción celular y por el otro lado la disminución de la fibrinólisis permite el incremento de formación de fibrina en la cavidad abdominal<sup>(9,18)</sup>.

Un incremento en la formación de fibrina conduce a adherencias del epiplón al peritoneo y órganos móviles, pero previene la diseminación de infecciones. El efecto de la barrera física de la fibrina previene la entrada de bacterias a la circulación y conduce a la formación de abscesos al inhibir las actividades antibióticas y fagocíticas<sup>(11,18)</sup>. De esta forma la adhesión del epiplón implica la formación de un exudado de fibrina en el sitio de la lesión que forma un puente entre éste y el sitio de lesión. La fibrina favorece la migración de leucocitos, principalmente macrófagos y neutrófilos; también asisten fibroblastos hacia el sitio de lesión para formar un tejido de cicatrización<sup>(11)</sup>.

Se distinguen dos zonas de tejidos en el epiplón: una membrana fenestrada translúcida y áreas ricas en tejido adiposo; las zonas translúcidas están involucradas en el transporte de fluidos y solutos así como en la adhesión del epiplón a las zonas de inflamación, mientras que en el tejido conjuntivo ordinario laxo areolar que presenta depósitos de adipocitos tiene la función de vigilancia peritoneal, ya que en casos de inflamación, permite el acceso de los leucocitos que provienen principalmente del torrente sanguíneo hacia la cavidad peritoneal; además en este tejido conjuntivo se localizan las máculas lácteas, estructuras que juegan un rol muy importante en la eliminación de bacterias y proporcionan un lugar para la proliferación y maduración de los macrófagos y linfocitos B<sup>(5,11,12,23)</sup>.

El epiplón responde a la estimulación causada por la presencia de material extraño, bacterias, toxinas y al existir zonas inflamadas se adhiere al área afectada, aumentando su flujo sanguíneo favoreciendo la cicatrización y reparación de los tejidos mediante la producción de agentes químicos o sustancias inflamatorias, hemostáticas y quimiotácticas, que actúan sobre las máculas lácteas<sup>(18,23)</sup>. Estas últimas consisten en agregados linfoides formados por numerosos macrófagos,

neutrófilos, linfocitos y mastocitos asociados a arteriolas, vénulas y capilares, todos ellos conforman estructuras altamente reactivas que se incrementan en tamaño y número como respuesta al proceso inflamatorio del peritoneo, tienen como propósito esencial, fagocitar, producir anticuerpos, filtrar la cavidad abdominal, incluso tiene la capacidad de capturar y controlar la diseminación de células tumorales al reconocerlas y atraparlas, en otros casos almacena sustancias o partículas extrañas<sup>(11,18,21,23)</sup>. Es por eso que en la actualidad las células del epiplón son utilizadas en diversas disciplinas quirúrgicas, casos exitosos de transposición del epiplón han sido descritos como en: neurocirugía, ginecología, urología y cirugía vascular<sup>(11,24-27)</sup>.

Algunas células mieloides supresoras secretan una gran variedad de factores que proveen un microambiente regenerativo para tejido dañado limitando el área de lesión y también para generar una respuesta regenerativa, además son reconocidas por ser adherentes y migrar o expandirse (in vitro) como los fibroblastos<sup>(9,20)</sup>. Los datos sugieren que la presencia de las células mieloides supresoras son parte del mecanismo por el cual el epiplón provee apoyo a la reparación celular de los tejidos dañados<sup>(20)</sup>. Un estudio sugiere que la localización de células mieloides supresoras y las células mieloides derivadas de supresoras en tejido sano a gran escala provee una explicación del porque el epiplón tiene la habilidad de apoyar la reparación de tejido dañado<sup>(20)</sup>. Las células que se expanden en el epiplón, principalmente de tipos mieloides derivadas de supresoras son reguladas y dirigidas para reaccionar en respuestas inflamatorias e inmunológicas, mientras que las células mieloides supresoras pueden funcionar como fuente de actividad trófica, además se acumulan en y participan en la supresión de respuestas inmunes hacia antígenos tumorales, igualmente pueden expandirse en gran medida en sitios de inflamación. Ya sea que cualquiera de estos grupos de células se originen del epiplón o de otros tejidos, está actualmente bajo investigación<sup>(1,9,10,20,21,24)</sup>.

## Aspectos morfofuncionales de las máculas lácteas

Las máculas lácteas<sup>(28)</sup> también llamadas tejido linfoide asociado al omento OALT por sus siglas en inglés<sup>(29-31)</sup> se ha descrito en el epiplón de diversas especies, (ratas, conejos, cerdos, perros, gatos, ardillas, bovinos, gallinas, borregos, cabras, murciélagos y topos)<sup>(17,32-35)</sup>; intervienen en la actividad inmune desde la vida fetal<sup>(21,36,37)</sup>.

Éstas existen exclusivamente en el epiplón, consisten en acúmulos de células mononucleares más o menos maduras, que comprenden macrófagos (70%), células B (10%), células T (10%) y mastocitos (10%), asociados a arteriolas, vénulas y capilares<sup>(5,6,36,37)</sup>. Por lo que son consideradas los sitios de procedencia y diferenciación de los macrófagos<sup>(11,12)</sup>. Una de las funciones del epiplón es la estimulación de las colonias de macrófagos propiciando que sean el grupo más abundante en la mácula<sup>(18,20,36,37)</sup>.

Estas máculas contienen una red capilar de vasos sanguíneos (como los que se llegan a observar en el glomérulo renal), que permiten el intercambio de fluidos entre la cavidad peritoneal, el torrente sanguíneo y el tejido adyacente al omento; microscópicamente el tejido se caracteriza por presentar capas de células mesoteliales y leucocitos, con presencia de poros en las capas de tejido conectivo, permitiendo la comunicación directa de la mácula láctea con la cavidad peritoneal, particularmente durante la peritonitis<sup>(38)</sup>.

Los agregados linfoides de la mácula láctea se distinguen de otros tejidos adiposos viscerales, ya que desarrollan una estructura más organizada, donde las células T y B son agrupadas como si fueran un tejido linfoide secundario. La mayoría de los leucocitos encontrados en el epiplón de roedores se concentran en estas estructuras<sup>(11,12,17,29-31)</sup>; la falta de detección significativa de células dendríticas dentro del epiplón conduce a la percepción de que el epiplón mayor es una estructura linfoide estimulada por la inflamación, estos agregados celulares proporcionan al epiplón una función similar a la de los órganos linfoides secundarios. En individuos clínicamente sanos estas áreas de agrupación de células T y B<sup>(12)</sup> se

encuentran en estado inactivo, pero aumentan de tamaño y número como respuesta a procesos inflamatorios de la cavidad abdominal<sup>(21,22)</sup>.

Mediante un estudio inmunohistoquímico se encontró que las áreas específicas de linfocitos B y T pueden distinguirse arregladas de la siguiente forma, los linfocitos B se localizan cerca de las células reticulares de los agregados, mientras que los linfocitos T se tiñen más oscuro y se encuentran entre los adipocitos adyacentes<sup>(21,29)</sup>.

Los linfocitos son células que forman parte del sistema inmune adquirido, células presentadoras de antígenos y células "NK" asesinas naturales, junto con los macrófagos que a su vez provienen de los monocitos<sup>(5-8)</sup>.

Los datos de un estudio demuestran que el epiplón activo contiene por lo menos dos grupos de células que facilitan la regeneración del tejido: las células inmunomoduladoras mieloides derivadas de células supresoras y las células madre totipotenciales. Basado en estas investigaciones se propone que el epiplón se encarga de la reparación tisular y cicatrización como respuesta a una invasión externa y lesión de tejidos<sup>(20)</sup>.

El tejido linfoide asociado a mucosas del sistema respiratorio y entérico, se encuentra comúnmente en las tonsilas<sup>(39)</sup>. Las áreas organizadas de tejido linfoide en el intestino delgado incluyendo las placas de Peyer están descritas como equivalente al timo de los animales jóvenes, pero son diferentes de las máculas lácteas del epiplón<sup>(10,39)</sup>.

## Generalidades del tejido hemátópoyético

La sangre está compuesta por un componente celular llamado elemento figurado de la sangre, y un componente fluido que es el plasma. El componente celular está conformado por los eritrocitos, leucocitos y plaquetas<sup>(6)</sup>, y se origina a partir de células hematopoyéticas<sup>(39)</sup>, ambos componentes circulan por los conductos vasculares para transportar nutrimentos a las células y enviar los productos de desecho hacia los órganos excretores<sup>(6,8,40)</sup>.

El mieloblasto es el precursor más tempranamente reconocible de la serie de los granulocitos. Es una célula ovoide o esférica con un núcleo eucromático también esférico que contiene de 3 a 5 nucléolos. Su citoplasma es abundante y se tiñe de azul claro en contraste con el citoplasma intensamente basófilo de los rubroblastos<sup>(5,6,7)</sup>. El promielocito es algo más grande que el mieloblasto, los nucléolos no se observan con facilidad, el citoplasma es más abundante y se tiñe de azul más claro que el del mieloblasto, además contiene un número variable de gránulos azurófilos grandes y prominentes (peroxidasa positivos). La maduración de los promielocitos produce mielocitos, que poseen un núcleo esférico o festoneado con la cromatina ligeramente condensada y carecen de nucléolo. El citoplasma de los mielocitos se tiñe de azul pálido y contiene numerosos gránulos “específicos” (peroxidasa negativos), la formación de gránulos azurófilos se detiene al generar gránulos específicos; de tal manera que el número de gránulos azurófilos se reduce a la mitad en cada subsiguiente división celular, sin embargo, la producción de gránulos específicos continúa hasta el estado de metamielocito durante el cual ya no es posible la división. El tipo de gránulos específicos presentes indica el tipo de granulocito que se va a desarrollar<sup>(5-8,41,42)</sup>. Los mielocitos se pueden distinguir de los linfocitos en la médula ósea por su abundante citoplasma y carencia de condensación marcada de la cromatina nuclear<sup>(6)</sup>. El mielocito sufre una transformación nuclear para formar el metamielocito, que tiene núcleo heterocromático festoneado de forma arriñonada, los gránulos específicos de diversos granulocitos en esta fase tienen colores característicos<sup>(5,6)</sup>. Los metamielocitos tienen usualmente una indentación mayor al 25% del grosor del

núcleo mientras que los que tienen una indentación menor, se consideran mielocitos<sup>(39)</sup>.

Las células en banda que resultan del estrechamiento posterior del material nuclear forman núcleos con apariencia de “C”, “S” o “V” sin constricciones definidas, su citoplasma es azul pálido con gránulos igualmente pálidos (neutros), como se observa en los neutrófilos maduros, los granulocitos maduros tienen un núcleo heterocromático notablemente segmentado. El núcleo de los eosinófilos y basófilos maduros, en general, es menos segmentado (dos o tres lóbulos) que el de los neutrófilos (que forman de tres a cinco lóbulos). El estadio final de los granulocitos maduros está caracterizado por constricciones del núcleo que da su clásica apariencia multilobulada<sup>(5,6,39)</sup>.

Los agranulocitos son los linfocitos y los monocitos, ambos carecen de gránulos específicos, pero presentan gránulos inespecíficos que se tiñen con el azocarmín, por lo que se denominan carminófilos y se denominan mononucleares ya que no presentan lobulaciones en el núcleo<sup>(6,22)</sup>. Los linfocitos son menos numerosos que los neutrófilos. Los monocitos y los eosinófilos son vistos con menor frecuencia que todos los anteriores y los basófilos raramente se encuentran circulando en la sangre<sup>(39)</sup>.

La serie precursora de células monocíticas comprende sólo un pequeño porcentaje de las células normales de la médula ósea. Los monocitos maduros son encontrados en la sangre periférica<sup>(39)</sup>. Las células en etapas tempranas, monoblastos y promonocitos son difíciles de diferenciar con claridad de los precursores de los granulocitos, los primeros distinguibles por su forma nuclear (que es más irregular) y la ausencia de gránulos en el citoplasma, que son visibles en los promielocitos<sup>(6,39)</sup>.

## Aspectos morfofuncionales de los neutrófilos

Los leucocitos se clasifican en dos grupos: los granulocitos y los agranulocitos; los granulocitos son los neutrófilos, eosinófilos y basófilos; éstos presentan como su nombre lo indica gránulos específicos, que tienen diversas afinidades tintoriales dependiendo del tipo de célula, así, los eosinófilos son afines a colorantes ácidos, los basófilos afines a colorantes alcalinos y los neutrófilos con afinidad intermedia. Los granulocitos tienen núcleo conformado por 2 o más lóbulos unidos por puentes de cromatina<sup>(5,6,40-44)</sup>.

Los neutrófilos son los leucocitos (glóbulos blancos) que se encuentran con mayor frecuencia en la sangre periférica de perros sanos, estos proliferan y maduran dentro de la médula ósea<sup>(5,6,39)</sup>. Y constituyen una línea de defensa contra las infecciones microbianas. La capacidad de los neutrófilos para engullir y destruir sistemáticamente a las bacterias depende de la presencia de numerosos receptores de membrana y subsecuentemente señales celulares junto a constituyentes citoplasmáticos específicos dentro de sus gránulos<sup>(39,43,44)</sup>, ésta característica de fagocitar es un paso importante junto a la inmunidad no específica que actúa principalmente contra bacterias y hongos; es por esto que el déficit de estas funciones en los neutrófilos, conllevan a un incremento en la susceptibilidad por enfermedades infecciosas ya sean congénitas o adquiridas<sup>(6,39,43)</sup>.

Los neutrófilos maduros miden aproximadamente 10-12 $\mu\text{m}$  de diámetro, tienen un núcleo de forma elongada, formando en los caninos de 2 a 5 distintivos lóbulos de heterocromatina (que se tiñe densamente) y se encuentran unidos por áreas reducidas, las cuales suelen ser simplemente estrechamiento del material nuclear, con una pequeña hebra muy compacta de eucromatina condensada en el centro que forma filamentos finos<sup>(5-7,39,40,43)</sup>. Todo el núcleo se tiñe de color morado a púrpura con la tinción de rutina (hematoxilina y eosina), el nucléolo es raramente observado y tiene pocos poros nucleares presentes<sup>(39,41,42)</sup>; otra característica de las células es que contienen pocos organelos desarrollados<sup>(6,39,43)</sup>, mediante microscopía electrónica se demuestra que la superficie celular contiene numerosos pseudópodos pequeños lo cual incrementa su área de contacto, característica

crucial para la función de fagocitosis que realiza<sup>(6,8,23,39)</sup>. Los neutrófilos inmaduros son células que contienen un núcleo elongado que carece de lobulaciones características de las células maduras<sup>(39)</sup>.

El citoplasma en las células adultas es típicamente claro o ligeramente eosinófilo, presenta numerosos gránulos en el citoplasma indiscernibles, pero que pueden llegar a teñirse poco con la eosina o con la tinción de Romanowsky<sup>(39-42)</sup>.

Las proteínas son producidas por el retículo endoplásmico rugoso en respuesta a la expresión de factores presentes en etapas específicas del desarrollo de los neutrófilos. Como ya se mencionó los gránulos en su mayoría están formados secuencialmente durante la maduración de los neutrófilos proporcionándoles una mezcla de gránulos y vesículas<sup>(5-7,19,39,43)</sup>. Ésta diversidad de gránulos contribuyen a formar una barrera de defensa contra bacterias, hongos, protozoarios y algunos virus<sup>(5,39,45)</sup>. El citoplasma contiene lisosomas agrupados en gránulos primarios (azurófilos o mieloperoxidasa positivos), que participan en la modulación del proceso inflamatorio, además de la generación e inactivación de factores quimiotácticos y emigración de neutrófilos, en la mayoría de las especies, los gránulos primarios son los más grandes y densos, estos gránulos pueden tener una gran heterogenicidad en forma y tamaño<sup>(5-7,39,40-43)</sup>. Los gránulos secundarios o específicos, son más pequeños y más numerosos que los gránulos primarios y pueden ser redondos (u ovalados), elongados o con forma de pesa<sup>(5,8,39)</sup>, contienen sustancias bactericidas<sup>(8,19,39)</sup>. Dentro de las que se conocen diversas proteínas con actividad antimicrobiana particularmente la lactoferrina, que es la proteína mejor definida en estos gránulos, otras proteasas dentro de las vesículas son la fosfatasa alcalina y lisozima, que degradan la matriz extracelular además colagenasa y gelatinasa en pequeñas cantidades. Los gránulos terciarios son ligeramente más pequeños (100 a 200nm) que los secundarios y están distribuidos en todo el citoplasma contienen cantidades moderadas de gelatinasa, dichas proteasas y otros componentes son necesarios para el estallido respiratorio así como receptores para moléculas de adhesión endotelial, proteínas de la matriz extracelular y mediadores de la inflamación, los últimos tipos de gránulos (secundarios y terciarios) son peroxidasa negativos<sup>(5-8,19,39,43)</sup>.



Otras estructuras similares son las vesículas de secreción y cuerpos multilaminares y multivesiculares. Las vesículas de secreción contienen proteínas plasmáticas y son clasificadas como vesículas endocíticas; los cuerpos multilaminares y multivesiculares podrían ser precursores de lisosomas<sup>(6,39)</sup>. Los lisosomas maduros, típicamente densos que se encuentran en muchas otras células no han sido identificados en los neutrófilos<sup>(39)</sup>.

A pesar del contenido enzimático existe una marcada variación en la actividad enzimática de los neutrófilos en diferentes especies. Las lisozimas de los neutrófilos, son deficientes en: monos, bovinos, cabras, borregos, gatos y hamsters; solo una pequeña actividad fue detectada en: caballos, perros, ratas y conejillos de indias; la alcalina fosfatasa (de los neutrófilos) es poca en perros pero las catelicidinas están presentes en los neutrófilos de perros<sup>(8,39)</sup>. Diversas especies (bovinos, borregos, cabras, perros, gatos, conejos, ratas, conejillos de indias y caballos) parecen tener un tipo de gránulos que podrían estar relacionado funcionalmente con algunos gránulos existente en humanos<sup>(39)</sup>.

Los gránulos secundarios junto a los gránulos primarios participan principalmente en la destrucción microbiana pero a pesar de que un número de proteínas puede ser similar y estar presente en los diferentes tipos de gránulos, hay ciertas proteínas que les confieren características importantes. Por definición los gránulos primarios contienen mieloperoxidasa, que es una potente hemoproteína microbicida involucrada en la destrucción de los microorganismos oxígeno dependientes, otra proteína encontrada en los gránulos primarios incluyen las alfa-defensinas<sup>(5,39,45)</sup> (las defensinas son poderosos péptidos antimicrobianos capaces de formar poros (incrementando la permeabilidad y confiriéndole su actividad bactericida), otros elementos son las serina proteasas como la elastasa, catepsina G, y proteinasa 3<sup>(5,6,23,39,45)</sup>.

Las proteínas deben ser empacadas y separadas apropiadamente en diferentes gránulos sirve para dos propósitos principales, el primero es separar las proteínas que no pueden coexistir juntas sin el riesgo de activar sus enzimas, causar la degradación de proteínas o generar daño celular. La segunda permite una

exocitosis diferenciada de las proteínas, basándose en los grados de variación de la estimulación de los neutrófilos. Esto completa la necesidad de tener proteínas disponibles para usarse en diferentes momentos y en diferentes contextos para realizar las múltiples funciones de la célula<sup>(6,9,39)</sup>.

Cuándo los gránulos son liberados, sus contenidos pueden ser liberados dentro de fagosomas (como los gránulos primarios) o pueden ser liberados al ambiente extracelular (gránulos secundarios y terciarios). Durante la exocitosis los gránulos o las vesículas membranales se incorporan al fagosoma o a la membrana del neutrófilo respectivamente. Éste concepto de fusión de membranas es crucial, ya que las membranas de los gránulos y las vesículas contienen diversos receptores, necesarios para la extravasación de los neutrófilos, quimiotaxis, migración e inmunomodulación<sup>(5,8,39,43)</sup>. Proteínas bactericidas capaces con la función de incrementar la permeabilidad se une a los lipopolisacáridos de las bacterias Gram negativas, induciendo la inhibición del crecimiento y el daño de membrana, también ayuda a mediar la fagocitosis de las bacterias. Las serina proteasas pueden degradar la matriz extracelular y propiciar la muerte de las bacterias además de regular la respuesta inmune<sup>(39)</sup>.

Las vesículas membranales de secreción son las primeras en ser liberadas después de la estimulación de los neutrófilos las cuales son pronta y eficazmente movilizadas al inicio de la interacción neutrófilo-endotelial, las vesículas contienen proteínas de adhesión, receptores quimio-atrayentes, y receptores del complemento que se incorporan a la membrana celular de los neutrófilos después de la exocitosis. Los receptores le permitirán al neutrófilo establecer una adhesión firme con el endotelio, y ayudar en subsecuentes diapédesis y quimiotaxis; los gránulos terciarios son los siguientes en estar preparados para ser liberados, con enzimas como la gelatinasa para degradar la matriz celular y receptores de membrana que ayudarán a la extravasación y migración de los neutrófilos. Finalmente son liberados los gránulos secundarios que contienen gránulos que se activan con la exocitosis, ya que los gránulos primarios requieren de un estímulo mayor para poder ser liberados<sup>(39)</sup>.

Los neutrófilos son las primeras y más importantes células en llegar al sitio quirúrgico y están presentes en concentraciones más altas en la herida que en la sangre en un lapso de unas 10 horas posteriores a la cirugía. Estas células son atraídas por los estímulos quimiotácticos provenientes de la incisión a través de la interacción que involucra moléculas de activación. Los neutrófilos se adhieren al endotelio vascular y migran a través de éste para luego fagocitar los microorganismos<sup>(2,9)</sup>. En vivo la inmunidad inespecífica no se encuentra relacionada exclusivamente con la función de los neutrófilos, también interviene en el proceso la comunicación intercelular, ésta es indispensable y se cumple a través de los mediadores solubles denominados citocinas (interleucinas, quimiocinas, interferones, etc). Las citocinas son proteínas que transmiten señales de una célula emisora hacia una célula receptora, son sintetizadas por diversas células del organismo y hoy en día se sabe que regulan la respuesta inmunológica sistémica y local<sup>(5-8,23,45)</sup>. Todas ellas actúan conjuntamente mediante diversas condiciones incluyendo la vaso permeabilidad, estimulación, opsonización, factores del complemento y la interacción entre los neutrófilos con la matriz extracelular u otras células inflamatorias y endoteliales<sup>(6,9,23,39,45)</sup>.

Una vez que los neutrófilos han efectuado su función de destruir a los microorganismos, ellos mueren también, lo que da como resultado la formación de pus, que es una acumulación de leucocitos muertos, bacterias, fibrina y líquido tisular<sup>(6,45,46)</sup>. Los neutrófilos son remplazados por los macrófagos como tipo de célula dominante en las heridas no contaminadas. Los macrófagos favorecen la actividad enzimática lisosómica, secreción de proteasas producción de interferones y reclutamiento de células mesenquimatosas hacia la herida quirúrgica para su posterior diferenciación en fibroblastos y así, dar comienzo al proceso de reparación tisular<sup>(23,45,46)</sup>.

La glicoproteína alfa1-acida modula la expresión de las citoquinas antiinflamatorias de los macrófagos y disminuye la quimotaxis entre otras funciones antiinflamatorias. Esto puede propiciar un mecanismo de retroalimentación donde los neutrófilos pueden modular su respuesta local, limitando el daño tisular en el individuo<sup>(9,23,39,45)</sup>. En la inflamación local aguda se aprecian las actividades de

fibrinólisis y activación de linfocitos, dónde la función principal de los neutrófilos es la fagocitosis de partículas diversas, así como bacterias y otros microorganismos (5,6,8,23,39,46). Además ésta se facilita mediante el complemento y proteínas del plasma que funcionan como opsoninas. Todo esto modula la inflamación durante las lesiones tisulares<sup>(5,6,23,45-49)</sup>.

Las células granulocíticas de la médula ósea se dividen en tres compartimientos sin que exista una clara separación anatómica entre ellos. Estos compartimientos son el compartimiento proliferativo (mitótico) formado por mieloblastos, promielocitos y mielocitos; el compartimiento madurativo (postmitótico) formado por metamielocitos y neutrófilos en banda, por último el compartimiento de reserva (almacenamiento), formado principalmente por neutrófilos maduros. El tiempo de generación de los granulocitos en la médula ósea es de unos 5 a 7 días en la mayoría de las especies. El tamaño del compartimiento de reserva de neutrófilos de la médula tan grande que puede ser varias veces el del número de neutrófilos circulantes. Este compartimiento de reserva suministra neutrófilos a la sangre y a los tejidos cuando existe una demanda urgente<sup>(5,6,45)</sup>. Una vez liberados de la médula ósea los neutrófilos, pueden salir o entrar a la circulación sanguínea, al cruzar la pared capilar<sup>(44)</sup> (su vida media dentro del torrente sanguíneo de aproximadamente 6 a 14 horas<sup>(39)</sup>) posteriormente se marginan a lo largo de la pared de los vasos sanguíneos y emigran a los tejidos en donde actúan durante un periodo de tiempo desconocido. El número total de neutrófilos de la sangre es reemplazado por lo menos dos veces al día cada 10 a 12 horas en la mayoría de las especies<sup>(5,6)</sup>.

Aparentemente los neutrófilos maduros abandonan la médula ósea al azar (los mecanismos que controlan su liberación, no se conocen por completo), estando en la sangre las células se dividen en dos grupos: circulantes y marginales, el primer grupo es el que viaja en los vasos sanguíneos, el grupo marginal presenta neutrófilos que se asocian a las paredes capilares, principalmente pulmonares y en menor grado en el hígado y en el bazo. En la mayoría de las especies animales los dos grupos de neutrófilos se encuentran en equilibrio dinámico y juntos conforman el conjunto de neutrófilos totales, en el caso de los gatos el tamaño del grupo marginal es casi dos veces el del grupo circulante. Las dos fuentes principales de

neutrófilos maduros que el organismo utiliza para cubrir las demandas cuando se presentan las primeras señales de aviso son: el compartimento de reserva de la médula y el grupo marginal, contrariamente a los eritrocitos que normalmente permanecen en la sangre a lo largo de toda su vida<sup>(6)</sup>.

En el perro el número de neutrófilos en el torrente sanguíneo depende de diversos factores que incluyen: la tasa de liberación de la médula ósea, el intercambio de los grupos de neutrófilos de la circulación y los marginales, además la velocidad de emigración de los neutrófilos de la sangre hacia los tejidos<sup>(39)</sup>.

La producción y cinética de eosinófilos, basófilos y monocitos son similares a las de los neutrófilos. Los basófilos son raros en la sangre periférica y en la médula ósea; son más comunes en la sangre de los rumiantes y caballos que en la de perros y gatos<sup>(5,6)</sup>.

Los monocitos contrariamente a los granulocitos, mantienen su nucléolo cuando maduran, lo cual sugiere que los monocitos maduros son capaces de sintetizar nuevos gránulos. A continuación pasan a la sangre como células relativamente inmaduras y alcanzan su capacidad funcional total sólo cuando penetran a los tejidos y se diferencian a macrófagos<sup>(6,46)</sup>.

### **Aspectos morfofuncionales de los linfocitos**

Los linfocitos se desarrollan a partir de la médula ósea procedentes de células madre pluripotenciales hematopoyéticas, que posteriormente se diferenciarán en líneas mieloide o linfoide. La línea linfoide común genera tres tipos de linfocitos, linfocitos B, linfocitos T y natural killer<sup>(5,6,39,46)</sup>.

Los linfocitos son los agranulocitos que se encuentran con mayor frecuencia en la circulación, en la sangre periférica varían en tamaño siendo los de tamaño pequeño los más abundantes con un diámetro de 5 a 10 $\mu\text{m}$ <sup>(5,6,45,46)</sup>, en los cuales su núcleo se tiñe densamente y su forma puede ser redonda, ovalada o tenuemente indentada y el citoplasma es sólo un halo que rodea a dicho núcleo<sup>(5-8,19,39,43,45,46)</sup>. Los linfocitos

de tamaño mediano miden de 10 a 18 $\mu\text{m}$ <sup>(5)</sup>, aparecen en los frotis sanguíneos de perros sanos, presentan un citoplasma basófilo que puede rodear completamente el núcleo y que ocasionalmente estos linfocitos contendrán pequeños gránulos azurófilos no específicos que llegan a teñirse de color rosa o lila, en la sangre periférica pueden alcanzar el tamaño de un neutrófilo<sup>(5,6,39,40,43)</sup>. Los organelos citoplasmáticos predominantes son ribosomas, polirribosomas y el retículo endoplásmico rugoso, mientras que el aparato de Golgi y las mitocondrias no están bien desarrollados, los linfocitos grandes son característicos del tejido linfoide donde suelen encontrarse<sup>(5,6)</sup>.

El desarrollo de linfocitos B es un proceso que dura toda la vida, empieza en el hígado fetal y pasa hacia la médula ósea después del nacimiento. Después de abandonar la médula ósea, las células B colonizan tejidos periféricos, convirtiéndose en órganos linfoides<sup>(9,21,39)</sup>.

Los linfocitos migran de la médula ósea con la finalidad de adquirir su especificidad funcional van hacia los órganos linfoides primarios: bolsa cloacal (o de Fabricio) en aves y al timo en el caso de mamíferos, en los primeros los linfocitos "B" también conocidos como bursodependientes, mientras que en la mayoría de los animales domésticos se originan y diferencian en la médula ósea, y los segundos son los linfocitos "T" ó Timo-dependientes actúan como células mediadoras de la respuesta celular<sup>(5-7,45,46)</sup>.

Los linfocitos circulan aparentemente de manera aleatoria en el torrente sanguíneo; pero una vez que estas células se involucran en el reconocimiento de antígenos en la corteza de los linfonodos, su migración se altera los linfocitos "T" migran a la zona paracortical de los linfonodos, mientras que los linfocitos B activados migran a los tejidos linfoides asociados a la mucosa<sup>(39)</sup>, aun así la mayoría de los linfocitos circundantes son "T" <sup>(5,6,9,23,45,46)</sup>.

Este sistema órgano-específico de receptores guiados de los linfocitos funciona en neoplasias así como en condiciones de inflamación<sup>(39)</sup>.

Los linfocitos forman una línea de defensa inmune contra los microorganismos invasores en el tejido lesionado, o cualquier causante de incitar la respuesta inflamatoria<sup>(6-8,9,23,39,45)</sup>.

Desde el punto de vista funcional existen dos poblaciones de linfocitos: los linfocitos T y B, que no presentan diferencias morfológicas, pero que pueden distinguirse con técnicas inmunológicas<sup>(5,6,23,39,45,46)</sup>. Los linfocitos responsables de la respuesta inmune humoral son los linfocitos "B" y los responsables de la respuesta inmune celular son linfocitos "T". Cuando un linfocito es activado, responde dividiéndose y diferenciándose en células efectoras. Los antígenos de superficie de la membrana de los linfocitos CD4+ y CD8+ intervienen en el reconocimiento de los antígenos del complejo principal de histocompatibilidad (MHC). Las células "T" cooperadoras tienen en su superficie el antígeno CD4+ que reconoce a moléculas MHC de la clase II y los linfocitos T citotóxicos tienen el antígeno CD8+ que reconoce a las moléculas MHC de la clase I<sup>(5-8,21,23,45,46)</sup>.

Los linfocitos B como células efectoras sintetizan<sup>(47)</sup> anticuerpos (inmunoglobulinas) y constituyen la base de la inmunidad que se origina en la sangre o inmunidad por anticuerpos humorales en su superficie celular tiene receptores específicos para antígenos<sup>(6,21,23,45,46)</sup>.

Los linfocitos T funcionalmente constituyen una población variada de células que se encargan de la inmunidad mediada por células, en respuesta a estímulos antigénicos pueden volverse células T citotóxicas, cooperadoras, supresoras o células de memoria; de igual modo es posible que produzcan factores de transferencia y linfocinas<sup>(5-7,45,46)</sup>; las linfocinas son proteínas de bajo peso molecular activas desde el punto de vista biológico, sin especificidad hacia los antígenos. Son sintetizadas y secretadas principalmente por células T activadas, aunque también las células B pueden producirlas en respuesta a estímulos inespecíficos, se han identificado más de 90 diferentes actividades mediadas por linfocinas<sup>(5,45,46)</sup>. Ya que se ha visto que pueden influir sobre poblaciones celulares (macrófagos, linfocitos, granulocitos), alterando su comportamiento, algunos efectos causan: la inhibición en la capacidad de migración de los macrófagos, agregación de macrófagos,

estímulo para la mitosis de los linfocitos, disminuye la replicación viral<sup>(5,8)</sup>. También se sabe que la activación de integrinas juega un rol importante en la entrada de linfocitos B a los órganos linfoides secundarios<sup>(9,12,23)</sup>.

Cuando las células T y B se introducen a la cavidad peritoneal ambas se acumulan rápida y abundantemente en las bandas de tejido adiposo omental<sup>(12)</sup>; se ha demostrado previamente que las células T y B se segregan en el tejido adiposo del epiplón bajo condiciones de inflamación forman grupos de diferentes tamaños que se acumulan, y debido a la acción de las integrinas los linfocitos se congregan en el epiplón el cual a su vez es un sitio de activación rápida de células T precediendo a su aparición en la cavidad peritoneal<sup>(12,23,49)</sup>, llegando a acumularse en tejidos con inflamación crónica<sup>(47)</sup>.

Los linfocitos reactivos pueden verse en los frotis sanguíneos de los perros, y responden a una estimulación antigénica, estos linfocitos pueden ser más grandes y presentar una intensa basofilia en el citoplasma<sup>(6,39)</sup>.

El lapso de vida de los linfocitos varía de unas horas a muchos años. Se piensa que los linfocitos longevos son las células de memoria que sirve de reserva para un antígeno en particular<sup>(5,47)</sup>.

### **Aspectos quirúrgicos del epiplón**

Las propiedades regenerativas del epiplón han sido utilizadas por los cirujanos, por más de 100 años, y ha ganado importancia clínica al demostrar una alta capacidad de regeneración<sup>(9,12)</sup> lo que ha causado su continuo uso en casi todos los campos quirúrgicos, como en: neurocirugía, ginecología, urología y cirugía vascular<sup>(11,24)</sup>. En algunos casos mediante la transposición de epiplón en órganos dañados<sup>(20)</sup>, autoinjertos traqueales, extremidades isquémicas, angiogénesis miocárdial, reconstrucción de la pared torácica e incluso la trasposición de un injerto libre de epiplón ha sido utilizado en daño de la médula espinal<sup>(24,28,50)</sup>, otros casos como la revascularización de úlceras arteriales, reconstrucción de algunas deformaciones de la cabeza y cuello o en osteoradionecrosis mandibular y reconstrucción del oído



Asimismo, es comúnmente utilizado en casos de protección durante cirugías de anastomosis gastrointestinal o de colon, salvaguardando las heridas quirúrgicas, para el manejo de perforación de úlceras gástricas y como tejido de reconstrucción en resecciones abdomino-perineales; sus propiedades hemostáticas se han utilizado en cirugías hepato-pancreáticas para minimizar hemorragias postoperatorias, también después de una hepatectomía parcial o una pancreatoduodenectomía<sup>(9,11,25-27,51-54)</sup>.

La transposición del epiplón promueve la proliferación de: islotes pancreáticos, hepatocitos, riñón embrionario y neuronas. Las células omentales pueden ser activadas y se convierten en una rica fuente de factores de crecimiento y expresan marcadores para células madre pluripotenciales, que pueden explicar algunas de las propiedades regenerativas y de neovascularización<sup>(20,23,45)</sup>.

Nuestro entendimiento de las diversas funciones del epiplón como la linfopoyesis y la regulación del metabolismo está evolucionando; desde una perspectiva quirúrgica juega un rol importante en la cicatrización de tejidos, y estas propiedades pueden ser aprovechadas para ingeniería tisular y trasplantes<sup>(9,11)</sup>.

Usándolos en forma apropiada en piel, los colgajos de epiplón pueden evitar problemas asociados con la contracción y la epitelización, incluyendo el tiempo prolongado de cicatrización y el correspondiente cuidado de la herida, la no cicatrización, la fibrosis excesiva, una superficie epitelizada frágil más susceptible a nuevas lesiones, la contractura de la herida, el compromiso del retorno venoso distal al sitio dañado, hasta que se produzca la cicatrización<sup>(2,23)</sup>.

Siempre que se mantengan los altos estándares de la técnica aséptica, aunado al uso profiláctico de antimicrobianos las infecciones postquirúrgicas son poco frecuentes para la mayoría de los procedimientos. Cuando éstas se presentan, pueden afectar seriamente el resultado final de la cirugía ya que son la causa más común de morbilidad<sup>(2)</sup>. El uso incorrecto e indiscriminado de los antimicrobianos profilácticos aumenta los costos y causa el desarrollo de resistencia bacteriana<sup>(2,50)</sup>.

Las infecciones de las heridas incisionales aparecen dentro de los 30 días de ocurrida la cirugía o incluso un año si se colocó un implante. El desarrollo de una

infección depende de muchos factores, que incluyen: el número y patogenicidad de las bacterias en la herida, la presencia de defensas en el huésped, el ambiente local de la herida y la técnica quirúrgica<sup>(2,50)</sup>. El riesgo de infección de una herida quirúrgica es 2 veces más elevado en procedimientos de 90 minutos, en comparación a cirugías de 60 minutos, y la tasa de infección se duplica por cada hora de cirugía<sup>(2)</sup>. Después de una hora, por cada minuto de tiempo anestésico hay un aumento del riesgo de infección. Se han reportado algunos casos de un anestésico que genera un riesgo 3.8 veces superior en el desarrollo de infecciones postquirúrgicas también animales más viejos (>8 años) y aquellos con condición corporal inferior a la normal tienden a exhibir tasas de infección más altas<sup>(2)</sup>.

Las enfermedades individuales como desnutrición, inmunodeficiencia, enfermedades vasculares periféricas, obesidad, endocrinopatías (en particular, diabetes mellitus) no han sido señalados como factores de riesgo, tal como ocurriera en las personas<sup>(2)</sup>. Los microorganismos poseen diferente virulencia y patogenicidad, algunas bacterias tienen cápsulas muy gruesas que las hacen más resistentes a la fagocitosis, o producen exotoxinas que son citotóxicas y promueven la estadía de los microorganismos dentro de los tejidos. Además la pared celular de las bacterias Gram negativas contienen un complejo de polisacáridos que protegen a los microorganismo de la respuesta inmune del huésped y actúa como una barrera, impidiendo la penetración antimicrobiana hacia la célula<sup>(2,45)</sup>.

La mayoría de los animales con sistema inmune normal pueden sobrellevar infecciones postquirúrgicas<sup>(2)</sup>.

La incisión estimula la respuesta inflamatoria normal en el huésped, comenzando con un rápido aumento de la permeabilidad capilar en el sitio quirúrgico. El cierre de las heridas crea un compartimiento que se llena con un exudado serohemorrágico que deriva del plasma sanguíneo como parte de una inflamación aguda causada por la cirugía<sup>(2,23)</sup>.

Los factores locales de las heridas quirúrgicas influyen sobre el desarrollo de la infección, por ejemplo, los coágulos sanguíneos, tejido isquémico, sacos con líquidos y cuerpos extraños prolongan la fase inflamatoria del proceso de

cicatrización de las heridas. Estos factores también inhiben los mecanismos normales de defensa del cuerpo y reducen el número de bacterias requeridas para establecer una infección, como los seromas y la presencia de líquido dentro de las cavidades corporales aumentan la posibilidad de infección debido a la inhibición de la fagocitosis<sup>(2)</sup>.

El uso de parches de epiplón en el tratamiento de perforación de úlceras duodenales aumenta la cicatrización de la úlcera e inhibe la reaparición de la misma<sup>(11)</sup>; en otros casos exitosos los injertos proporcionarán los elementos necesarios para la reparación del tejido que necesite revascularización<sup>(51)</sup>. Ésta propiedad notable de neovascularización del epiplón fomenta la angiogénesis en las estructuras adyacentes a las que se utiliza<sup>(9,51)</sup>.

Los implantes médicos han sido utilizados para ayudar en la reparación o en la cicatrización de organismos vivos; los implantes fueron utilizados sobre la superficie o alrededor de orificios naturales del cuerpo<sup>(2,9)</sup>.

Las alteraciones de la serosa cicatrizan con rapidez sin la formación de adherencias o evidencia de proliferación celular en los bordes de la herida. Los daños peritoneales se llenan con rapidez por un exudado inflamatorio que es remplazado posteriormente por un nuevo mesotelio en el transcurso de una semana. La fuente principal del nuevo tejido peritoneal son los macrófagos de flotación libre que ingresan a la herida y se diferencian en células peritoneales. Si se deja el peritoneo sin suturar, no disminuye la resistencia a la tracción ni la resistencia a la ruptura de las heridas abdominales efectuadas en animales de experimentación<sup>(2,9,23)</sup>.

Estudios en modelos animales han demostrado que envolver el epiplón alrededor de la zona de anastomosis tiende a promover la cicatrización. Aunque en estudios clínicos envolver el epiplón ha probado ser más benéfico en cirugías del tracto gastrointestinal anterior<sup>(11)</sup>.

Los colgajos con pedículos son capaces de mejorar la circulación en áreas isquémicas, también pueden ser utilizados para cubrir áreas con mala vascularización, zonas difíciles de inmovilizar, orificios que se encuentran sobre cavidades y áreas donde el almohadillado y la durabilidad son esenciales. Tienen

igual valor para la cobertura y protección de nervios, vasos, tendones y otras estructuras susceptibles a la exposición y trauma. Se han utilizado con éxito como sustitutos de mucosa para defectos en los labios y el paladar después de la escisión amplia de tumores<sup>(2)</sup>.

La operación realizada con mayor frecuencia en caninos OSH (oforosalingohisterectomía) y muchas cirugías realizadas en otros aparatos corporales (gastrointestinal, urinario, endocrino) requieren el acceso quirúrgico al abdomen, con propósitos diagnósticos, terapéuticos o pronósticos. Dicho acceso se realiza en la mayoría de los casos a través de la línea mediana ventral. El conocimiento de la anatomía de la pared abdominal es de gran valor para garantizar el acceso correcto y evitar problemas al cerrar la herida quirúrgica<sup>(2)</sup>.

Los perros y los conejos fueron los primeros animales de experimentación utilizados para el estudio de los cambios vasculares en los colgajos tubulares<sup>(2)</sup>.

En animales con osteotomía donde se aplica un injerto de epiplón se observan características cualitativas de regeneración de la fractura incluyendo reacción del periostio, el callo de hueso y la calidad de dicho callo, la formación de hueso nuevo fue evaluada y en el análisis histológico de la cicatrización de la fractura fueron valorados y calculados: el grado de cicatrización, demostrándose que hubo una unión completa del hueso en los perros que tuvieron el injerto de epiplón<sup>(51)</sup>.

Las células omentales se injertan en los tejidos lesionados lo que sugiere que podrían funcionar como células madre<sup>(20)</sup>.

Las ventajas del epiplón es que es una fuente accesible y versátil de factores de crecimiento, factores angiogénicos y leucocitos<sup>(9,23)</sup>; incluso puede ser estirado considerablemente al hacer una disección cuidadosa para generar una estructura movable. También puede ser usado como injerto en sitios distantes como las paredes del tórax, el perineo o los muslos<sup>(5,9,11,23)</sup>, el epiplón en injertos pediculados ha sido utilizado exitosamente en el manejo de heridas extraperitoneales complejas<sup>(11,50)</sup>.

## HIPÓTESIS

Debido a que las células del epiplón participan en mecanismos de protección y regeneración tisular posteriores a diversas lesiones quirúrgicas o procedimientos en el tracto digestivo y además se sabe que el número de mastocitos se incrementa en casos de resección con anastomosis termino-terminal, por lo tanto es posible que también se aumenten el número de linfocitos y neutrófilos en el epiplón de perros sometidos a dicho proceso quirúrgico en relación con animales clínicamente sanos.

## OBJETIVOS

### **Objetivo general:**

1. Determinar el número de linfocitos y neutrófilos presentes en el epiplón de perros con anastomosis termino-terminal con respecto a animales clínicamente sanos

### **Objetivos específicos:**

1. Cuantificar el número de linfocitos en el epiplón de perros con obstrucción intestinal por cuerpo extraño, intervenidos quirúrgicamente mediante resección intestinal y anastomosis termino-terminal, con respecto a animales clínicamente sanos.
2. Cuantificar el número de neutrófilos en el epiplón de perros con obstrucción intestinal por cuerpo extraño, intervenidos quirúrgicamente mediante resección intestinal y anastomosis termino-terminal, con respecto a animales clínicamente sanos.
3. Determinar las diferencias en las cuantificaciones de los 2 tipos celulares de los animales intervenidos quirúrgicamente mediante resección intestinal y anastomosis termino-terminal por cuerpo extraño, con respecto a animales clínicamente sanos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### A) Animales

Para este estudio se utilizaron un total de veinte perros de distinta raza, edad y sexo.

Los animales se dividieron en 2 grupos (n=10), el primero de ellos fueron pacientes de una clínica privada que presentaron obstrucción intestinal por cuerpo extraño; el segundo grupo de animales se conformó por perros clínicamente sanos destinados a sacrificio en el antirrábico "Luis Pasteur", dependiente de la Secretaría de Salud.

### B) Procedimiento quirúrgico:

Los animales del primer grupo una vez establecido el diagnóstico se prepararon siguiendo los lineamientos de asepsia y anestesia de rutina. Posteriormente, se realizó la resección intestinal y la anastomosis termino-terminal.

Los animales intervenidos se mantuvieron en jaulas de hospitalización con dieta líquida por tres días con un suplemento alimenticio (Ensure®) y se continuó con dieta blanda durante 8 días. Posteriormente, continuaron con su dieta normal a base de croquetas y agua *ad libitum*. Los perros fueron sometidos posteriormente a celiotomía para obtener las muestras (20 días después de la cirugía).

En los animales del segundo grupo o grupo testigo, después de realizarse la eutanasia en el antirrábico, se recolectaron las muestras de epiplón en el área destinada para toma de muestras siguiendo los patrones de asepsia.

### **C) Procesamiento de muestras**

En el primer grupo se obtuvieron las muestras de epiplón del área próxima a la lesión quirúrgica y del segundo grupo se tomarán las muestras del epiplón al azar. Las muestras fueron sometidas a fijación con formol salino buferado a pH de 7.2 durante 24 horas. Posteriormente, se procesaron por el método de inclusión en parafina utilizando un histoquinete AO Scientific Instruments T/P8000. Después se realizaron cortes semiseriados de  $8\mu\text{m}$  de grosor mediante un micrótopo Spencer 820. Los cortes fueron teñidos por las técnicas de PAS y Giemsa, que permitieron analizar la morfología general de los tejidos y Giemsa, principalmente para la identificación específica de los linfocitos.

Se cuantificaron los linfocitos y neutrófilos de los dos grupos por unidad de área ( $1\text{mm}^2$ ) utilizando para ello una retícula ocular micrométrica (Carl Zeiss) y con el objetivo de 40x con un aumento total de 400x. Cada retícula tiene  $200\mu\text{m}$  por lado y tiene un área total de 25 campos cada uno de  $40,000\mu\text{m}^2$  y se obtuvo un área total de  $1\text{mm}^2$  que corresponde a 1 millón de  $\mu\text{m}^2$ . La unidad de área de medición fue de  $1600\mu\text{m}^2$  y cada retícula completa contiene 25 unidades de este tipo.

Con base en su morfología histológica se determinó y comparó el número de linfocitos y neutrófilos por  $\text{mm}^2$ , tanto de los animales con anastomosis como los del grupo testigo.

Los valores fueron sometidos al análisis estadístico mediante la prueba de ANOVA.

Para conocer las diferencias entre las medias de los linfocitos y neutrófilos, se realizó la prueba de Tukey y T de Student.



## RESULTADOS

En los cortes histológicos del epiplón de los perros del grupo experimental (RIA), se observaron abundantes neutrófilos, macrófagos y fibroblastos, además gran cantidad de fibras colágenas con respecto al grupo de los animales clínicamente sanos.

Con respecto a los linfocitos encontrados fueron de tamaño pequeño y se observó que en los animales con RIA el número de linfocitos era ligeramente menor o permanecía constante cuando se compara con los animales clínicamente sanos (Figura 1). Mientras que el número de neutrófilos se incrementa aproximadamente al doble en los animales con RIA en relación con los clínicamente sanos (Figura2).

De forma particular, se observó una moderada presencia de basófilos en los animales con RIA, estos granulocitos no son frecuentes en los cortes histológicos propios del tejido conjuntivo ordinario pero tampoco se observaron de forma relevante en los animales del grupo testigo. Es importante señalar que no se observaron basófilos degranulados lo cual facilitó su identificación histológica.

Los adipocitos que se observaron tanto en el grupo control como en el experimental correspondieron a adipocitos uniloculares característicos de la grasa blanca, siendo más abundantes en el grupo de animales clínicamente sanos.

En general se observó mayor cantidad de vasos sanguíneos en los distintos campos microscópicos observados en los animales experimentales y en menor cantidad en el grupo testigo.

En los cortes histológicos con la tinción de rutina y especiales (Giemsa y PAS) no se observaron cambios patológicos.

Los resultados de la cuantificación celular de los linfocitos y neutrófilos se resumen en las figuras (1) y (2), respectivamente.

En el conteo de linfocitos cuantificados por unidad de área ( $1600\mu\text{m}^2$ ), no mostró una diferencia significativa.

El promedio de los neutrófilos presentes en perros clínicamente sanos fue  $3.840 \pm 0.224$ , mientras que en los animales con RIA fue de  $8.00 \pm 0.676$ , siendo este incremento significativo ( $P < 0.0001$ ) por la prueba de "t" de Student y Tukey.

## DISCUSIÓN

En el presente trabajo se presentan las diferencias cualitativas de los neutrófilos presentes en el epiplón de perros en 2 condiciones: animales clínicamente sanos (grupo testigo) y animales sometidos a resección intestinal con anastomosis (RIA).

En los animales clínicamente sanos se observó abundante tejido adiposo y escasa presencia de vasos sanguíneos (Figura 3).

Las observaciones sugieren que el epiplón de estos animales realiza funciones de almacenamiento de nutrimentos y que no requiere de abundante vascularización debido a que la densidad celular y la heterogeneidad es menor en relación con los animales a los que se les practicó RIA. A diferencia de lo anterior los animales con RIA presentaron abundantes vasos sanguíneos mayor heterogeneidad en las poblaciones celulares entre los cuales destacan: mastocitos, neutrófilos, linfocitos, fibroblastos, macrófagos, basófilos (Figura 4) y adipocitos que también se observan en cantidad similar en relación con los perros clínicamente sanos (Figura 3 y 4).

Uno de los hallazgos más importantes del presente trabajo es el incremento en el número de neutrófilos de los animales con RIA en relación con el grupo testigo (Figura 2), (Figura 5) y (Figura 6). Una de las posibles causas de éste incremento es la presencia de un gran número de mastocitos degranulados en los animales con

RIA, ya que en los trabajos previos<sup>(55)</sup> se determinó que existía 10 veces mayor cantidad en los animales con RIA que en los animales sanos, así mismo en los animales con RIA se observó que del total de mastocitos cuantificados el 64% correspondía a células degranuladas y el resto sin degranular.

Las células cebadas producen mediadores químicos preformados y de novo; dentro de los mediadores químicos preformados (mediadores primarios), se encuentran el factor quimiotáctico de neutrófilos (NCF)<sup>(5,8,23,45)</sup> lo cual puede explicar el incremento observado (Figura 2).

Por otro lado, se ha informado Faria<sup>(56)</sup> un incremento en el número de neutrófilos en perros sometidos a anastomosis termino-terminal en los que se utilizó, como en nuestro caso, el ácido poliglicólico, como material de sutura; en estos animales se sugiere que el incremento se debió a una reacción inflamatoria exudativa provocada por dicho material, las cuantificaciones que se describen en este trabajo Faria<sup>(56)</sup>, se realizaron hasta las 2 semanas; esta pudiera ser la causa del incremento en el número de neutrófilos que se encontró en el presente estudio pueda deberse a una reacción inflamatoria exudativa inducida por el mismo material de sutura (ácido poliglicólico) ya que las reacciones inflamatorias agudas no cesan hasta que desaparece el estímulo que originó la reacción<sup>(57-60)</sup>.

La presencia de un mayor número de neutrófilos en los animales con RIA, tienen diversas consecuencias tisulares como son: participar en el proceso de remodelación tisular, producción de diversas enzimas que hidrolizan células del conjuntivo, producción de diversos mediadores químicos que permiten reclutar células del conjuntivo y activar células locales<sup>(9,11,45,51,60)</sup>.

En cuanto al proceso de remodelación tisular los neutrófilos tienen la capacidad de fagocitar antígenos por lo que también se les llama microfagos, para diferenciarlas de células fagocitarias más grandes que son los macrófagos<sup>(8)</sup>. También los neutrófilos producen enzimas como elastasa y colagenasa que lisan y remueven proteínas estructurales dañadas, además la elastasa puede destruir factores de crecimiento. Por otro lado los neutrófilos producen el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e interleucina 1 (IL1) que recluta fibroblastos y activa células epiteliales,

como pueden ser las células endoteliales y las células del endotelio vascular<sup>(5,6,8,23,45,59)</sup>.

En estudios previos<sup>(23)</sup> se ha informado que los neutrófilos son las primeras células en responder al factor de crecimiento derivado de plaquetas; además las plaquetas también producen el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), lo cual explica tanto el incremento de neutrófilos como el incremento en la vascularización que observamos en nuestro estudio, de tal manera que estas dos características histológicas pueden ser un reflejo de la actividad plaquetaria previa<sup>(23,45,59)</sup>.

La presencia de un mayor número de vasos sanguíneos implica un posible proceso previo de angiogénesis, este proceso puede ser iniciado por la activación de diversos tipos celulares como son fibroblastos, macrófagos, células endoteliales y plaquetas, ya que todos ellos producen VEGF que incremente la actividad mitótica de las células endoteliales<sup>(23)</sup>.

En la cuantificación de linfocitos no se observaron diferencias entre el grupo testigo y los animales con RIA. Debido a que la identificación de los linfocitos se realizó exclusivamente por sus características morfológicas y tinciones especiales para células sanguíneas (Giemsa)<sup>(39,40,41)</sup>, en nuestro estudio no se determinó que isotipos de linfocitos fueron los más abundantes por lo que no es posible saber si a pesar de que el número de linfocitos en los animales testigo y con RIA es igual, si existe una diferencia en la proporción o cantidad en los distintos isotipos.

Con base en los resultados obtenidos se puede suponer que el sistema inmune adaptativo no tuvo una participación aparentemente importante en el proceso de regeneración o en la reparación a los 20 días posteriores a la cirugía.

Se ha informado que el epiplón es una fuente importante de anticuerpos<sup>(5,8,19,23,45,59)</sup> esto se relaciona con el hecho de que en estas observaciones histológicas se identificaron células plasmáticas en ambos grupos de animales (grupo testigo y experimental), sin embargo no se determinó si la caracterización de los anticuerpos producidos por las células plasmáticas y si estos tienen la misma naturaleza para el grupo control y el de los perros con RIA, así mismo determinar si existe alguna

diferencia en la cuantificación de las células plasmáticas presentes en los dos grupos antes mencionados.

Cabe mencionar que en los cortes histológicos del intestino delgado (en su mayor parte yeyuno) de los animales con RIA presentaron una importante cantidad de linfocitos en la lámina propia por lo que suponemos que estas células además de cumplir con funciones de protección local pueden migrar a la luz intestinal, la presencia de éstos linfocitos es muy probable que provengan de los vasos sanguíneos de la lámina propia, sin embargo no se descarta la posibilidad de que se originaran del mismo peritoneo.

Cuando la reacción inflamatoria es crónica en los tejidos se observan abundantes agranulocitos (macrófagos y linfocitos), por lo que estas características no se observaron ni en los animales testigo ni en los animales con RIA, por lo que también podemos observar que en el día 20 postquirúrgico no existen evidencias de una reacción inflamatoria crónica sino aguda por el gran número de neutrófilos que se observaron.

En general la persistencia de linfocitos en un tejido se debe a que la señal que induce su presencia persiste, y que no se pudo apreciar en este estudio al día 20 postquirúrgico a la RIA.

Es importante mencionar que diversos factores de crecimiento son los que inducen la angiogénesis y los procesos de regeneración y reparación también son secretados por los macrófagos<sup>(5,23,45,57)</sup> y las plaquetas.

Como ha sido reportado por varios investigadores y autores se observaron para animales sanos y de grupo experimental, la presencia de máculas lácteas en proporciones similares, en éstas estructuras se encuentran principalmente macrófagos y linfocitos que cumplen diversas funciones<sup>(9-11,18,20,21,29,31,32,35,38,51)</sup>.

En otros estudios realizados en el epiplón se ha planteado la presencia de células troncales en los procesos de angiogénesis reparación regeneración y remodelación tisular por lo que es conveniente considerar la identificación de estas células en los dos grupos estudiados para poder confirmar su participación.

Resaltar la participación del epiplón en diversos procesos quirúrgicos todos estos estudios morfológicos tienen la finalidad o están encaminados en tratar conocer los mecanismos de regulación, la participación celular y las interacciones celulares que determinan todos los procesos fisiopatológicos en los que interviene el epiplón.

### **Conclusión Final**

En éste estudio se determinó que en los animales con RIA existió un incremento significativo en el número de neutrófilos en relación con el grupo testigo, no así cuando se cuantificó el número de linfocitos en los que no se observó diferencias significativas, esto sugiere diversas interacciones celulares con los mastocitos y las plaquetas, además de que la inmunidad adquirida aparentemente no tiene una participación relevante a los 20 días postquirúrgicos y que los datos morfológicos nos sugieren una reacción inflamatoria crónica.

## REFERENCIAS

1. Liebich K. Anatomía de los animales domésticos. 2ª ed. España (Madrid): Médica Panamericana, 2005;1-5:9-15:47-50:57-67:69-71:78-79.
2. Slatter D. Tratado de cirugía en pequeños animals 3ª ed. Buenos Aires: Intermédica 2006;136-137:169-170:345-346:481-499:506-507:758-761-768:770-771:777-778:1185-1193:1199-1200:1211-1212.
3. Dyce KM, Sack WO, Wensing JG. Anatomía Veterinaria 4ª ed. México. El manual moderno, 2012;53-56:100-102:129-135:434-439:444-459.
4. Sisson S, Getty R. Anatomía de los animales domésticos. 5ª ed. México: Salvat 1982;96-101:103-108:113-117:125-127:1649-1658:1688-1692.
5. Banks WJ. Histología veterinaria aplicada 2ª ed. México (D.F.). Manual moderno 1996;24:212:217-218:240.
6. Dellmann HD. Histología veterinaria 2ª ed. España: Acribia S.A. 1994; 45-59:63-65:67-75.
7. Bacha WJ, Wood LM. Atlas color de histología veterinaria. 2ª ed. Interamericana, 2001;117-123:136-139.
8. Gartner LP, Hiatt JL. Histología Texto y Atlas. México. McGraw-Hill Interamericana, 1997;104-108,195-206:212-223:242-249:342-345.
9. Platell C, Cooper D, papadimitriou JM, Hall JC. The omentum. China (Beijin); World Journal of Gastroenterology, 2000;169-174.
10. Boursier L, montalto SA, Raju S, Culora G, Spencer J. Characterization of cells of the B lineage in the human adult greater omentum. United kingdom (London); Blackwell Publishing London. Immunology; 2007;(119) 90-97.
11. Collins D, Hogan AM, O'Shea D, Winter DC. The Omentum: anatomical, metabolic and surgical Aspects. The Society for Surgery of the alimentary tract 2009;13:1138-1142.



12. Carlow DA, Gold MR, Ziltener HJ. Lymphocytes in the peritoneum home to the omentum and are activated by resident Dendritic Cells. *The Journal of Immunology* 2009;1155:1158:1160-1162.
13. Hall J, Heel K, Papadimitriou J, Platell C. The pathobiology of peritonitis. *Gastroenterology*, 1998;114:185-196.
14. Shipley PG, Cunningham RS. Studies on the absorption from serous cavities: 1. The omentum as a factor in absorption from the peritoneal cavity. *Am J Physiol*, 1916;40:75-81.
15. Galiano A. Diccionario ilustrado de términos médicos Disponible en: <http://www.iqb.es/diccio/o/om.htm>. 2009, marzo, 26.
16. Agrama HM, Blackwood JM, Brown CS, Machiedo GW, Rush BF. Functional longevity of intraperitoneal drains: an experimental evaluation. *Am J Surg*, 1976;132:418-421.
17. Shimotsuma M, Hagiwara A, Takashi T, Kawata M, Shields JW. Surface structure and cell zonation in human omental milky spots. *Lymphology* 1999;23(4):207-208.
18. Agca B, Paksoy M, Polat E, Aksin E, Dirican A, Durgun V, et al. Influence of omentectomy on peritoneal defense mechanisms in an experimental model of intra-abdominal infection. *European Surgical Research* 2003;35-39.
19. Junqueira-Ochoa LC, Carneiro J. *Histología básica: Texto y Atlas* 6ª ed. España (Barcelona), Elsevier Masson, 2005;92-94:99-103:223-225:228-240:246-249:254-261.
20. Shah S, Lowery E, Braun RK, Martin A, Huang N, Medina M, et al. Cellular Basis of tissue Regeneration by Omentum. *PLoS ONE*, 2012;(7)1-7.
21. Mebius RE. Lymphoid Organs for Peritoneal Cavity Immune Response: Milky spots. The Netherlands. *Immunity*, 2009;670-672.

22. Hosgood G. The omentum the forgotten organ: physiology and potential surgical applications in dogs and cats. *Comp. contedu. PractVet*, 1990; 12:45-51.
23. Jumaat M, Yussof S, Effat O, Dinker RP, Suneet S. Cellular events and biomarkers of wound healing. Malaysia, *Indian Journal of Plastic Surgery*, 2012;(45)2:220-228.
24. Mahdi AK. Effect of omentum graft on esophageal anastomosis in dogs. Iraq, *Journal of Veterinary Sciences*, 2011;25(2):65-70.
25. Li J, Xu P, Chen H, Yang Z, Zhang Q. Improvement of tracheal of tracheal autograft survival with transplantation into the greater omentum. *Ann Thoracic Surg*, 1995;60:1592-1596.
26. Shoshany G, Mordohovich D, Lichtig H, Bar-Maor JA. Preserved viability of the isolated bowel segment, created by omentoenteropexy: a histological observation. *J Ped Sug*, 1995;30:1291-1293.
27. Chamorro M, Carceller F, Flanos C, Rodriguez-Alvarino A, Colmenero C, Burgueno M. The effect of omental wrapping on nerve graft regeneration. *Br J Plastic Surg*, 1993;46:426-429.
28. Sack WO, Habel RE. *Nómina anatómica veterinaria, nómina histológica, nómina embriológica veterinaria*. 2<sup>a</sup> ed. *Comite Internacional de Nomenclatura Anatómica Veterinaria*. Bélgica, 1994;7:13-26.
29. Yildirim A, Aktas A, Nergiz Y, Akkus M. Analysis of human omentum-associated lymphoid tissue components with S-100: an immunohistochemical study. *Romanian Journal of Morphology and Embryology* 2010;51(4):759-764.
30. Rangel-Moreno J, Moyron-Quiroz JE, Carragher DM, Kusser K, Hartson L, Moquin A, Randall TD. Omental milky spots develop in the absence of lymphoid tissue-inducer cells and support B and T cell responses to peritoneal antigens. *Cell press*, 2009;1-13.

31. Sorensen EW, Gerber SA, Sedlacek AL, Rybalko VY, Chan WM, Lord EM. Omental immune aggregates and metastasis within the peritoneal cavity. *Immunol Res*, 2010;1-9.
32. Van-Vugt E, VanRijthoven EA, Kamperdijk EW, Beelen RH. Omental milky spots in the local immune response in the peritoneal cavity of rats. *Anat Rec*, 1996;244(2):235-245.
33. Dullens HF, Rademakers LH, Cluistra S, Van-Os H, Dux K, Den-Besten PJ, et al. Parathymic lymph nodes during growth and rejection of intraperitoneally inoculated tumor cells. *Invasion Metastasis*, 1991;11(4): 216-226.
34. Hagiwara A, Takashi T, Sawai K, Taniguchi H, Shimotsuma M, Okano S, Sakura C, et al. Milky spots as the implantation site for malignant cells in peritoneal dissemination in mice. *Cancer Res*, 1993;53(3):687-692.
35. Koten JW, Den-OtterW. Are omental milky spots an intestinal thymus? *Lancet* 1991; 338(8776):1189-1190.
36. Heller J, Hunt GB. Clinical applications of the omentum in dogs and cats. *AusVet Pract* 2002; 32: 66-73.
37. Shimotsuma M, Simpson MW, Takashi T, Hagiwara AH. Ontogeny of milky spots in the fetal lamb omentum. *Arch Histol-Cytol*, 1994;57:291-299.
38. Mironov VA, Gusev SA, Bradi AF. Mesothelial stomata overlying omental milky spots: scanning electron microscopic study. *Cell Tissue research*, 1979;201:327-330.
39. Weiss DJ, Wardrop KJ. *Schalm's Veterinary Hematology*. 6<sup>a</sup> ed. Wiley Blackwell,2011;61-63:263-267:321-325:367:371:374:802-803:806-809: 1114-1115.

40. Estrada-Flores E, Uribe Aranzábal MC. Atlas de Histología de vertebrados. México. UNAM, 2002; 36-39:46-52:73-76:86-88:106-107:115-116.
41. García-Moral R. Laboratorio de anatomía patológica. España (Madrid), Interamericana McGraw Hill, 1993;160-161:616-624.
42. Prophet EB, Mills B, Arrington JB, Sobin LH. Métodos histotecnológicos. EUA (Washington). Fuerzas Armadas de Estados Unidos de Norte América, 1995; 27:52-56:88-89.
43. Ross MH, Wojciech P. Histología texto y atlas color con biología celular y molecular. 5ª ed. Buenos Aires. Médica Panamericana, 2007;103:104:185-188,190-191:274-283:287-296:431-445.
44. Aughey E, Frye FL. Comparative veterinary histology with clinical correlates. Manson publishing, 2001;53-54.
45. Tizard IR. Introducción a la inmunología veterinaria. 8ª ed. España, Elsevier, 2009;18-26:28-40:65-66:70-76:89-91:128-135:151-163.
46. Samuelson DA. Textbook of veterinary histology. China, Saunders Elsevier, 2007;72-73:76-78:80-81:86-87:130-132:135-138:140:144-147:250-254.
47. García-Tamayo F. Fundamentos de inmunobiología. México (D.F.): Dirección general de publicaciones UNAM, 1997;112-147.
48. Abbas AK, Litchman AH, Pober JS. Inmunología celular y molecular: Anatomía funcional de las respuestas inmunitarias y sistémicas 2ª ed. España (Madrid): Interamericana McGraw-Hill, 1995;56-76.
49. Leeson TS. Atlas de histología. México. Interamericana McGraw-Hill, 1999;209-333.
50. Fossum TW, et al. Small animal Surgery. 3<sup>rd</sup> ed. China. Mosby Elsevier, 1997;317-322:443-467.

51. Saifzadeh S, Hobbenaghi R, Naghadeh BD, Pourreza B, Kazemi S. Autogenous greater omentum, as a free nonvascularized graft, enhances bone healing: An experimental nonunion model. *Journal of Investigative Surgery*, 2009; 22:129-137.
52. Liebmann DMI, Kaufmann NM. Utilization of the greater omentum in surgery: an historical review. *Neth J Surg*, 1991;43:136-144.
53. Ambroze WL, Wolff BG, Kelly KA, Beart RW, Dozois RR, Ilstrup DM. Let sleeping dogs lie: Role of the omentum in the ileal pouch anal anastomosis procedure. *Dis Colon Rectum*, 1991;34:563-565.
54. Williams R. The greater omentum: its applicability to cancer surgery and cancer therapy. *Current problems*, 1986;23:789-865.
55. Ramírez-Pérez R. Conteo de mastocitos en epiplón de perros (*canis familiaris*) sometidos a resección intestinal con anastomosis terminal por cuerpo extraño. *FMVZ-UNAM*, 2009;4-27.
56. Faria AJ, Pasqualucci EA, Medeiros R, Montovani M, Vieira RW. Comparative study of suture material on dogs stomach using extramucous synthesis technic. *Rev Assoc Med Bras*, 1968;15(1):3-10.
57. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. *Patología Humana 3ª ed.* España: Elsevier, 1985;29-61.
58. Diegelmann RF, Evans MC. Wound healing: An overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Front Biosci*, 2004;9:283-289.
59. Geneser F. *Histología, sobre las bases biomoleculares.* 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana, 2007; 212-222:235-248:257-255:401-406:410-418.
60. Bernis-Filho WO, Wouters F, Barth-Wouters AA, Octaviano-Bernis VM, Lopes LR, Andreollo NA. Comparative study of cotton, polyglactin and polyglycaprone sutures in intestinal anastomoses in dogs. *ABCD Arq Bras Cir Dig* 2013;26(1):18-26.

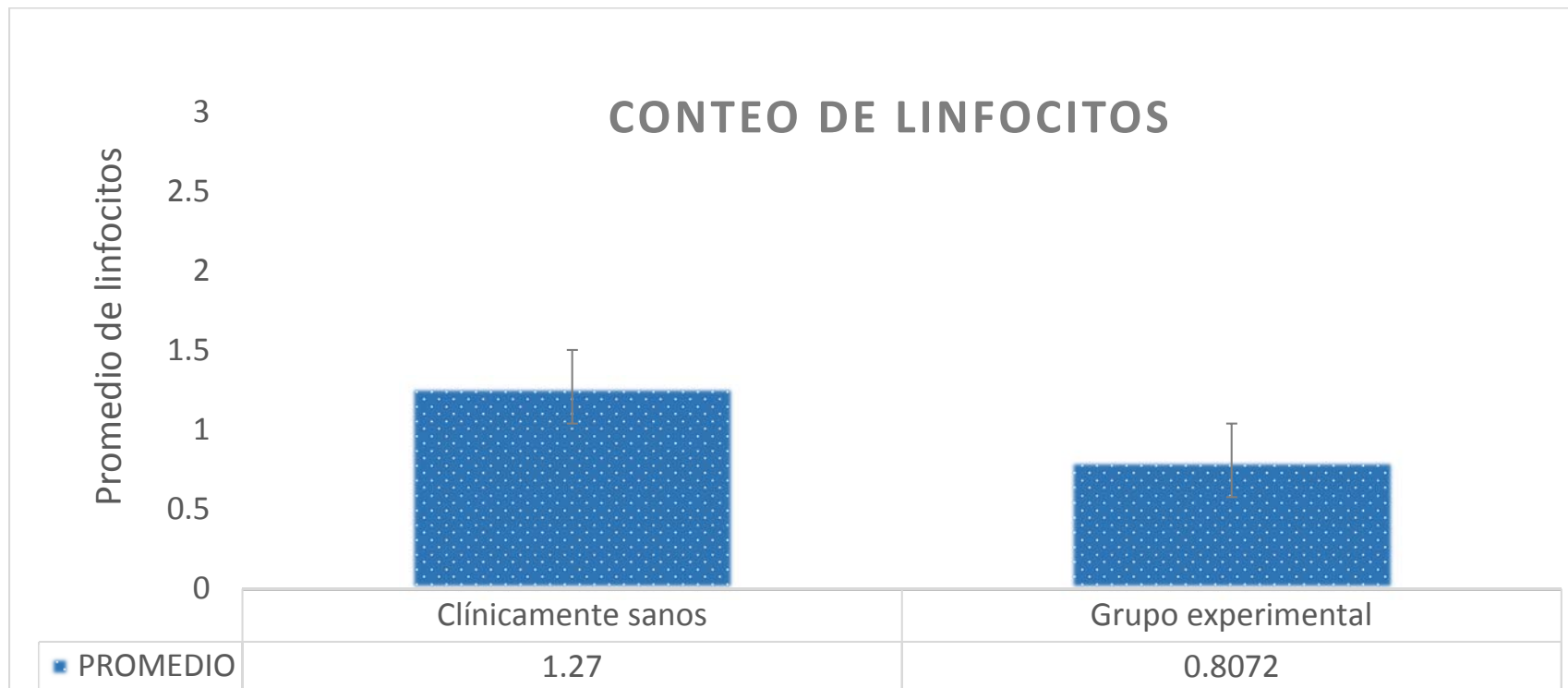


Figura 1: Linfocitos cuantificados en animales clínicamente sanos y el grupo experimental con RIA (Resección Intestinal y anastomosis).

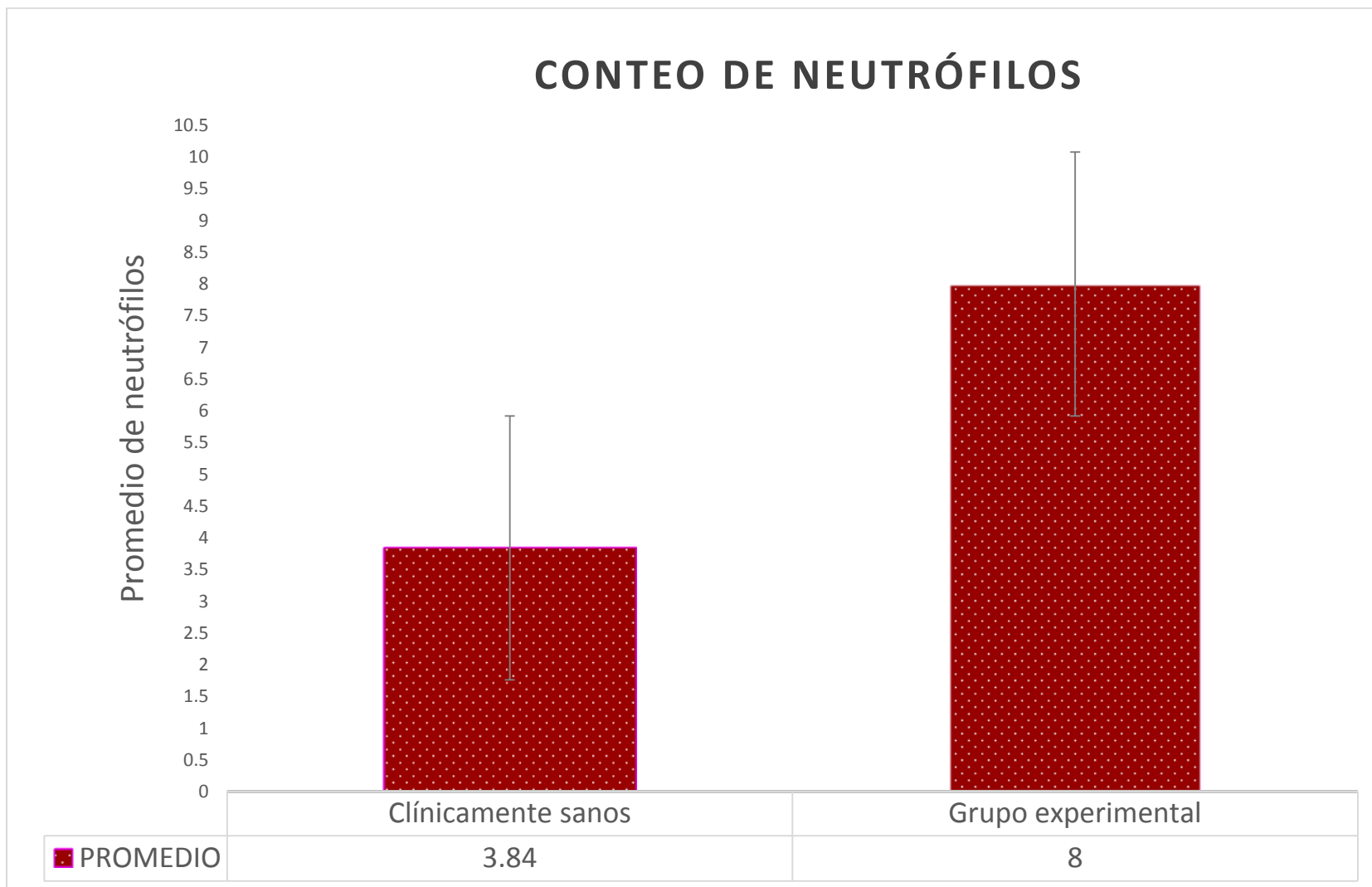


Figura 2: Cuantificados en animales clínicamente sanos y el grupo experimental con RIA (Resección Intestinal y anastomosis).

Figura 3. Corte histológico de epiplón de perro (*Canis familiaris*) del grupo de animales clínicamente sanos. (Técnica Inclusión en parafina. Giemsa, aumento 40x).

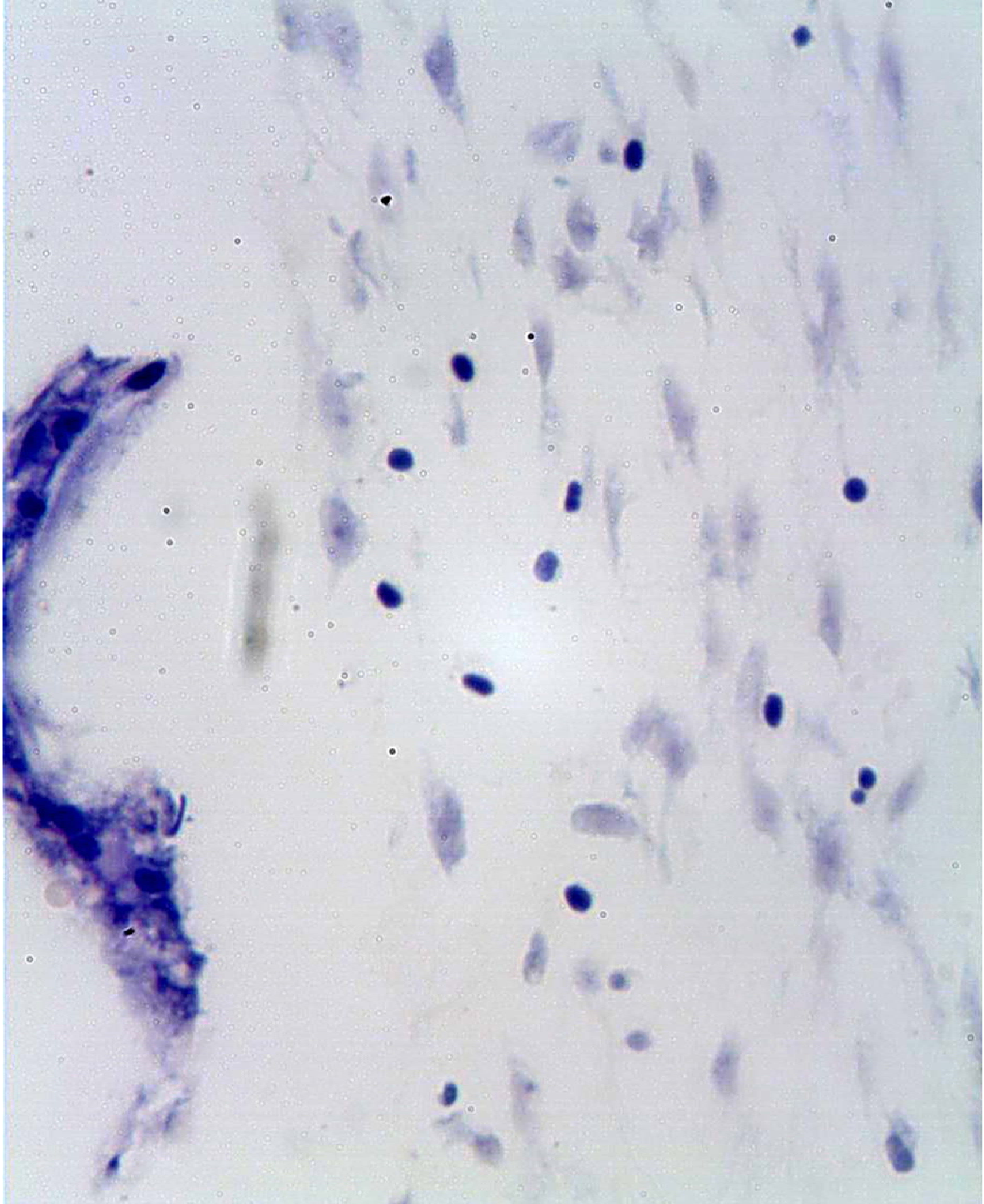




Figura 4. Corte histológico de epiplón de perro (*Canis familiaris*) del grupo de animales con RIA. (Técnica Inclusión en parafina. Giemsa, aumento 40x).

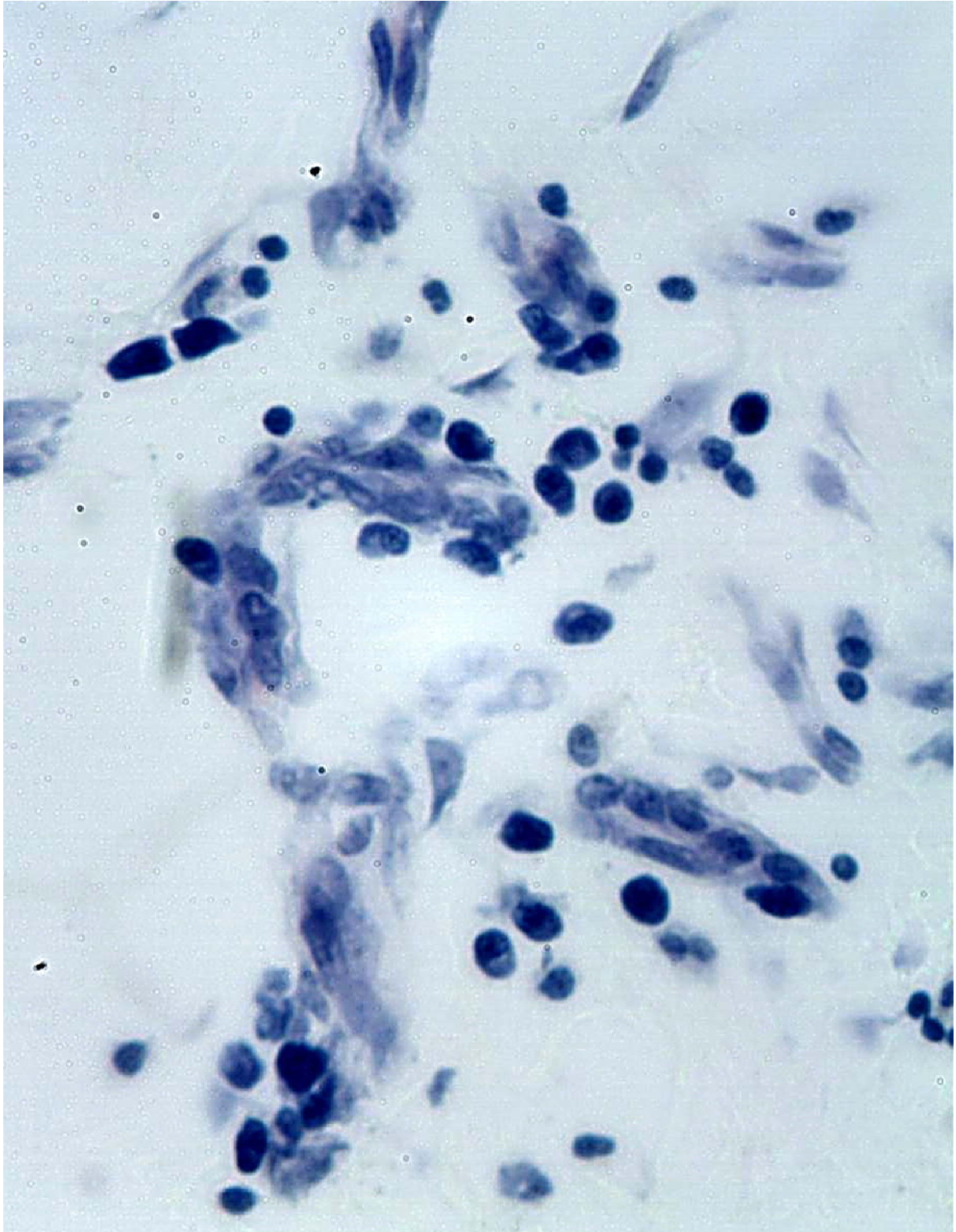


Figura 5. Corte histológico de epiplón de perro (*Canis familiaris*) del grupo de animales clínicamente sanos, marcando la presencia de neutrófilos. (Técnica Inclusión en parafina. PAS, aumento 40x).

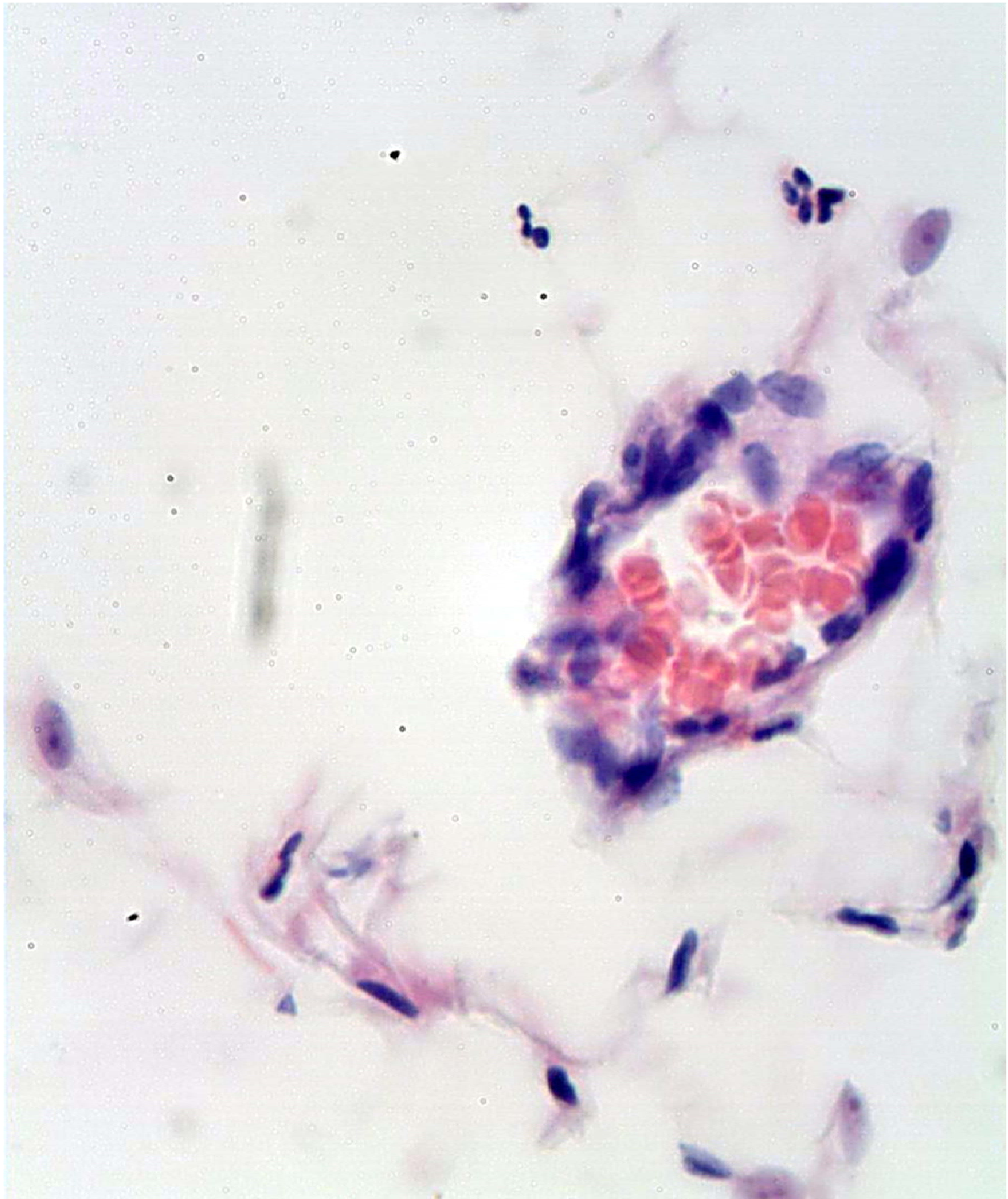




Figura 6. Corte histológico de epiplón de perro (*Canis familiaris*) del grupo de animales con RIA, marcando la presencia de neutrófilos. (Técnica Inclusión en parafina. PAS, aumento 40x).

