

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



**Estudio Histopatológico renal y la
presentación de anemia en caninos
seniles, Cajamarca - 2016**

TESIS

Para optar el Título Profesional de
MÉDICO VETERINARIO

Presentada por el Bachiller
HEYERMANS MIGUEL SÁNCHEZ CABRERA

Asesor
M.Cs. M.V. EDUARD EGBERTO GUEVARA LARA

CAJAMARCA - PERÚ
2017

DEDICATORIA

A mis padres: **EDGARDO y CARMELA**, por el apoyo moral y económico, ofrecido en los años universitarios, gracias a ellos culminé con satisfacción mi carrera profesional de Médico Veterinario.

A mis hermanos: **EDER, BEATRIZ Y OLINDA**, por la confianza y apoyo que me brindaron en cada momento, a ellos también debo mi superación intelectual para culminar mi profesión.

A mis abuelos: **JULIO e IRMA**, por su apoyo y confianza que depositaron en mi persona día a día para poder desarrollarme como buena persona en la carrera profesional.

AGRADECIMIENTO

A Dios, Padre Celestial, quien desde su morada gloriosa, me encaminó por caminos de rectitud para alcanzar en esta tierra mi progreso material cristalizado en mi carrera profesional en las Ciencias Veterinarias.

Al asesor del presente trabajo, M.Cs. M.V. Eduard Egberto Guevara Lara, Docente en la Categoría de Profesor Principal, adscrito a la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, gracias a su ayuda y orientación, logré culminar y obtener mis resultados de mi trabajo.

A todos los docentes y personal administrativo de la Facultad de Ciencias veterinarias, quienes me brindaron excelentes conocimientos para lograr terminar mi carrera profesional.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en la ciudad de Cajamarca-Perú, con el objeto de determinar alteraciones inflamatorias, degenerativas y cuadros hemorrágicos de los tejidos de 10 riñones de caninos criollos seniles, relacionados con la presentación de anemia. Las muestras histopatológicas fueron procesadas en el Laboratorio de Embriología e Histología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca. La técnica empleada fue de Inclusión en parafina, coloración Hematoxilina-Eosina. Dentro de las enfermedades inflamatorias que presentaron tres caninos fueron: Nefritis difusa tubular, glomerular e intersticial, pielonefritis. Enfermedades degenerativas: Necrosis tubular y atrofia generalizada unilateral. Cuadros hemorrágico: Hemorragia tubular, glomerular e intersticial. Los índices hematológicos de la serie eritrocítica y leucocitaria en los tres caninos, fueron por debajo de los valores normales que indican cuadros de anemia.

Palabras claves: Histopatológico, renal, anemia, caninos.

ABSTRACT

The present research was carried out in the city of Cajamarca, Peru, in order to determine inflammatory, degenerative and hemorrhagic alterations of the tissues of 10 senile creole canine kidneys, related to the presentation of anemia. The histopathological samples were processed in the Laboratory of Embryology and Histology of the Faculty of Veterinary Sciences of the National University of Cajamarca. The technique used was Paraffin Inclusion, Hematoxylin-Eosin staining. Among the inflammatory diseases that presented three canines were: Diffuse tubular, glomerular and interstitial nephritis, pyelonephritis. Degenerative diseases: Tubular necrosis and generalized unilateral atrophy. Hemorrhagic pictures: Tubular, glomerular and interstitial haemorrhage. Hematological indices of the erythrocytic and leukocyte series in the three canines were below normal values indicating anemia.

Key words: Histopathological, renal, anemia, canines.

ÍNDICE

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

RESUMEN

ABSTRACT

CAPÍTULO

Pág.

I.	INTRODUCCIÓN	01
	OBJETIVOS.....	02
II.	MARCO TEÓRICO.....	03
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
IV.	RESULTADOS.....	20
V.	DISCUSIÓN.....	28
VI.	CONCLUSIONES.....	31
VII.	REFERENCIAS	32
	ANEXO.....	35

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Una de las principales causas de la presentación de anemia en la mayoría de animales y en el hombre, es la eritropoyesis disminuida o deficiente en la médula ósea, en este caso, atribuida al factor estimulante eritropoyético - eritropoyetina que estimula la formación de eritrocitos como factor natural segregada casi en su totalidad en el tejido renal.

El presente estudio de investigación tiene como finalidad, a través del estudio histopatológico, determinar el grado de lesión que sufren los constitutivos de los tejidos renales en procesos inflamatorios, degenerativos y hemorrágicos, y por el grado de la lesión que sufre el riñón, relacionarlo con el detrimento en la producción de eritrocitos como causa de anemia en caninos seniles principalmente.

1. OBJETIVOS

1.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar trastornos histopatológicos del tejido renal de caninos criollos seniles con la presentación de anemia.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a. Determinar a través del estudio histopatológico renal, trastornos inflamatorios, degenerativos y cuadros hemorrágicos en caninos criollos seniles.
- b. Determinar valores hematológicos de la serie eritrocítica y serie leucocitaria encontrados en caninos criollos seniles.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Anemia

Las anemias consideradas como un trastorno que afecta a los hematíes de la sangre, se caracterizan por el descenso de la concentración de la hemoglobina por debajo de los valores normales. En este caso, no siempre el tratamiento está dirigido a compensar esta pérdida, el clínico dirige el tratamiento a la causa que las producen las anemias. Si en todos los casos de anemia, existe disminución del número de eritrocitos, prioritariamente antes de atacar la causa, es necesario el tratamiento con la administración de la hormona eritropoyetina segregada en el riñón actuando en la eritropoyesis en la médula ósea y a la vez controla la anemia. El descenso de hemoglobina y de hematíes debe ser absoluto para que pueda el proceso calificarse como anemia, por lo tanto, cuando la sangre aumenta en el componente líquido, estableciéndose una hemoconcentración, la relativa disminución de los hematíes constituye una pseudoanemia por hemodilución; de la misma forma, individuos anémicos que presentan una pérdida del componente líquido de la sangre, con hemoconcentración, pueden aparecer falsamente con una cifra de hemoglobina y hematíes normales e incluso elevada (Ruiz, 2000).

a. Causas de la anemia

Raras veces es una enfermedad primaria, generalmente es un proceso secundario y entonces el término de anemia no representa un diagnóstico satisfactorio de la enfermedad. La anemia de los

animales suele ser resultado de un proceso patológico generalizado y su existencia plantea al clínico el problema de descubrir la causa subyacente. El tratamiento se dirige a la anemia en sí, salvo como una medida de urgencia, pues tal procedimiento frustraría el diagnóstico y el tratamiento de la enfermedad fundamental. Por lo tanto, el paciente no recibiría los beneficios oportunamente. La anemia puede aparecer cuando hay: 1) pérdida de sangre por hemorragia o por parásitos chupadores de sangre; 2) destrucción acelerada de los eritrocitos; 3) eritropoyesis disminuida o defectuosa. En todos los casos se valora el contenido y la concentración de hemoglobina en los glóbulos rojos, la Hemoglobina Corpuscular Media (HCM) que expresa la cantidad de hemoglobina presente en cada glóbulo rojo y la Concentración corpuscular media de hemoglobina (CCMH), que expresa la concentración de hemoglobina en cada glóbulo rojo (James, 2005).

b. Eritropoyetina

La eritropoyetina, factor estimulante eritropoyético, hemopoyetina o simplemente EPO es una hormona glicoproteica que estimula la formación de eritrocitos y es el principal agente estimulador de la eritropoyesis natural. Es producida principalmente por el riñón en las células intersticiales peritubulares, células mesangiales (del 85 al 90 %), el resto en el hígado y glándulas salivales (del 10 al 15 %). Su nombre significa 'que facilita la creación' (en griego *poiesis*) de glóbulos rojos (o *eritrocitos*). Historia. Reissman, profesor de medicina en París, y su asistente Clotilde Deflandre, propusieron que esta hormona regulaba la producción de glóbulos rojos. Experimentos en conejos sometidos a extracciones de sangre, atribuyeron el incremento de los eritrocitos a un factor sanguíneo que llamaron *hematopoyetina*. Eva Bonsdorff y Eeva Jalavisto continuaron los estudios y denominaron posteriormente a este factor *eritropoyetina*. Estudios posteriores realizados por

Allan J. Ersle, corroboraron la existencia de una sustancia presente en la sangre capaz de estimular la producción de glóbulos rojos e incrementar el hematocrito. Esta sustancia fue finalmente purificada y confirmada como eritropoyetina, abriendo la posibilidad de tratamiento médico de anemia con esta hormona. El hematólogo John Adamson y el nefrólogo Joseph W. Eschbach estudiaron las diferentes formas de insuficiencia renal y el papel de la eritropoyetina natural en la formación de los eritrocitos. Mediante investigaciones en animales adelantadas en los años setenta, establecieron que la EPO estimula la producción de glóbulos rojos en la médula ósea, lo que podría orientar a un tratamiento para la anemia. En 1968, Goldwasser y Kung iniciaron trabajos para purificar la EPO humana, logrando aislar en 1977 algunos miligramos con más del 95 % de pureza. La EPO purificada permitió la identificación parcial de la secuencia de aminoácidos y los genes involucrados. Posteriormente, un investigador financiado por los INH en la Universidad de Columbia descubrió un modo de sintetizar la EPO (Jelkmann, 2007).

c. Producción, acción y carencia de eritropoyetina

La producción de eritropoyetina se ve estimulada por la reducción de tensión de oxígeno en los tejidos (hipoxia tisular) que es detectada por las células intersticiales peritubulares del riñón. Se supone la existencia de un sensor extrarrenal. La noradrenalina, la adrenalina y varias prostaglandinas estimulan la producción de EPO. La eritropoyetina producida en el riñón estimula las células madre de la médula ósea para que aumenten la producción de eritrocitos (glóbulos rojos). En el cuerpo humano, la EPO se forma en un 85-90 % en el riñón mediante el endotelio de los capilares situados alrededor de los canales nefríticos, y en un 10-15 % en los apocitos de las gónadas. Además, podría sintetizarse también en el cerebro, la matriz, los testículos y el bazo. Acción. Su acción principal es

estimular la citopoyesis, pero la EPO actúa también en la diferenciación de las células de precursor y también estimula en pequeña medida la formación de megacariocitos. El papel parácrino de la eritropoyetina en las gónadas y en el útero todavía no ha sido aclarado. La carencia de eritropoyetina ocasiona anemia y como consecuencia los síntomas asociados a ella como debilidad muscular, disminución de la tolerancia al ejercicio físico y mareos. Aparte de la eritropoyesis, esta hormona cumple otras funciones biológicas; por ejemplo, a nivel cerebral juega un papel importante en la respuesta a la lesión neuronal ejerciendo un papel protector en situaciones de isquemia al evitar la apoptosis celular. La eritropoyetina también se encuentra involucrada en el proceso de cicatriz de las heridas. EPO recombinante y compuestos homólogos. Esta hormona ordena a las células madre de la médula ósea producir más glóbulos rojos. La EPO es producida por células del riñón. Estas células liberan más EPO cuando el nivel de oxígeno en la sangre está bajo y con riesgo de anemia (Schroeder, 1999).

d. Usos de la eritropoyetina en medicina

Como medicamento, la eritropoyetina recombinante o sus similares fabricados de forma biotecnológica se usan para tratamiento de la anemia en pacientes con enfermedad renal crónica (ERC), en complemento a la diálisis y también después de ciclos de quimioterapia agresivos para tratamiento de cáncer. EPO y dopaje. Está prohibido el uso de la EPO o de sus similares —como el fármaco rHuEPO (eritropoyetina recombinante humana) como método de dopaje en el deporte. La EPO que aumenta la masa eritrocitaria (elevando el hematocrito), lo que permite un mejor rendimiento del deportista en actividades de ejercicio aeróbico. De esta manera se aumenta la resistencia al ejercicio físico. Según un estudio de 2007, el suministro de rHuEPO a individuos sanos

durante seis semanas produjo un aumento del consumo máximo de oxígeno (VO_2 max) en un 6,4 % y de la resistencia al esfuerzo; a través principalmente de un aumento del 10 % en la hemoglobina (Ahmet, 2005).

e. Papel de los riñones en la formación de eritropoyetina

En individuos normales, aproximadamente el 90% de toda la eritropoyetina se forma en los riñones; el resto se forma principalmente en el hígado. No se sabe exactamente donde forman los riñones la eritropoyetina. Una posibilidad es que las células del epitelio tubular renal secreten la eritropoyetina porque la sangre anémica sea incapaz de transportar suficiente oxígeno desde los capilares peritubulares a las células tubulares que consumen mucho oxígeno, estimulando así la producción de eritropoyetina. A veces la hipoxia estimulará también en otras partes del cuerpo, pero no en los riñones, la secreción de eritropoyetina, lo que sugiere que podría haber algún sensor extrarrenal que enviará señales adicionales a los riñones para producir esta hormona. En particular la noradrenalina, la adrenalina y varias prostaglandinas estimulan la producción de eritropoyetina. Cuando se extirpan los riñones, o una enfermedad renal los destruye, aparece invariablemente una intensa anemia, porque el 10% de la eritropoyetina normal formada en otros tejidos (sobre todo en el hígado) es suficiente para provocar la formación de sólo una tercera parte a la mitad de los glóbulos rojos necesarios (Guyton y Hall, 2011).

f. Consecuencia de la eritropoyetina sobre la eritrogénesis

Las anemias secundarias causadas por depresión selectiva de la eritrogénesis, determinan trastornos orgánicos, específicamente en nefritis intersticial crónica en caninos, especialmente en los caninos. , se ha determinado que el efecto importante de la eritropoyetina es estimular la producción de proeritroblastos a partir de las células

madre hematopoyéticas en la médula ósea. En ausencia de la eritropoyetina, se forman pocos hematíes en la médula ósea. En el otro extremo, cuando se forman grandes cantidades de eritropoyetina y hay abundancia de hierro disponible y de otros nutrientes necesarios, la producción de hematíes puede elevarse hasta quizás diez o más veces lo normal. Por tanto, el mecanismo de control de la eritropoyetina sobre la producción de glóbulos rojos es muy poderoso (Hib, 20019).

2.2. Nefritis, localización, causas

Inflamación de los riñones, causada por infección o por sustancias tóxicas irritantes. En el aspecto etiológico se distinguen dos clases de nefritis, infecciosa; no infecciosa (tóxicas). Por su localización: Glomerular, tubular o nefrosis, intersticial y pielonefritis (inflamación de la pelvis y del parénquima renal, con exudado inflamatorio). En el síndrome hepatorenal los agentes etiológicos tóxicos llegan por la sangre al riñón, y desencadenan los mismos cuadros inflamatorios y degenerativos presentes en el hígado con deterioro también en los túbulos, glomérulos renales, con compromisos del tejido intersticial. Organismos piógenos: *Corynebacterium pyogenes*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Corynebacterium venale*, esta última bacteria de considerable importancia en los bovinos, es la causa de la Pielonefritis bovina y Pielonefritis en perros y caballos. Los otros organismos piógenos como los estreptococos más se localizan en abscesos y menos producen infección difusa en los riñones. La Leptospirosis suele producir nefritis infecciosa en el perro. **Nefritis infecciosa**. Se debe a la presencia y proliferación de microorganismos (y virus) patógenos en el riñón equivalente a la nefritis infecciosa aguda es la nefritis intersticial aguda su verdadero carácter puede reconocerse por examen macroscópico, métodos histopatológicos y bacteriológicos (ej. riñón con estrías y manchas blancas en la corteza). **Pielonefritis**. La nefritis purulenta difusa es la causa de la pielonefritis. La pielonefritis

significa inflamación de la pelvis y del parénquima del riñón, afectando en primer lugar los vasos sanguíneos, dilatándolos y degenerando su endotelio vascular. Puesto que el carácter invasor de la mayoría de las infecciones piógenas es tal que tanto la pelvis como el parénquima casi invariablemente se afectan, la palabra se aplica de igual modo a la *Infección ascendente* por las vías urinarias y a la *Infección descendente* por la vía sanguínea. Al microscopio, el extenso exudado purulento consta principalmente de neutrófilos y linfocitos diseminados. El lumen de la pelvis renal puede contener o no una cantidad notable de células inflamatorias, pero al menos, se encuentra bajo el epitelio de esa cavidad. Los leucocitos y otros constituyentes del exudado inflamatorio pasan a la orina desde la mucosa pélvica, y las células, aunque degeneradas y no muy claras, se pueden identificar en la orina reciente. Se da el nombre de *piuria* a la presencia de células de pus (Neutrófilos) en la orina (Harrison, 2014).

2.3. Alteraciones patológicas tubulointersticiales

Existe una estrecha relación entre el intersticio y el epitelio tubular en cuanto a que las alteraciones degenerativas e inflamatorias crónicas del riñón casi siempre afectan la función tubular y del glomérulo, con deterioro vascular. De ahí que la nefritis aguda o crónica, focal o generalizada, supurativa o no supurativa, y la pielonefritis se clasifiquen como enfermedades tubulointersticiales. Las características más predominantes de esta enfermedad son la degeneración epitelial tubular, necrosis glomerular y del tejido parenquimatoso, inflamación intersticial y la fibrosis, con presencia de tejido inflamatorio en el intersticio, la pared y el endotelio de los vasos sanguíneos degenerados. La nefritis intersticial es de origen hematógeno y parte de una enfermedad sistémica, mientras que la pielonefritis es usualmente urógena; ambas se deben a agentes infecciosos. La lesión del glomérulo y los vasos es secundaria en la enfermedad tubulointersticial. En la enfermedad glomerular hay proteinuria

persistente mientras que en la enfermedad tubulointersticial los defectos se concentran en la reabsorción o excreción tubular (Lee, 2005).

✦ **Nefritis intersticial supurativa y no supurativa**

Nefritis intersticial no supurativa: Esta forma de nefritis puede ser aguda o crónica, y multifocal o difusa dependiendo de la intensidad de la injuria y de la respuesta del huésped. Histológicamente hay edema intersticial, infiltrado leucocitario y necrosis tubular focal. En la forma crónica y a medida que la enfermedad progresa hay infiltrado mononuclear, fibrosis intersticial y atrofia tubular generalizada. La nefritis intersticial es más frecuente en perros y gatos que en otros animales. Cuando es generalizada aguda puede ser causada por la infección por *Leptospira canícola* y *L. icterohaemorrhagiae* en los perros y *L. Pomona* en las vacas y los cerdos. Cuando la infección aguda es supurada hay fibrosis intersticial marcada y pérdida de nefronas, lo cual causa contractura del riñón con la resultante nefritis crónica.

Nefritis intersticial supurativa: La infección bacteriana de los riñones puede ser hematógena y causar nefritis supurativa embólica, o urógena y causar pielonefritis. La pielonefritis es la inflamación de la pelvis y del parénquima renal. La fibrosis de la pelvis y del parénquima casi siempre está presentes (Ferreira de la Cuesta, 2003).

2.4. Particularidad tintorial

La particularidad tintorial para observar al microscopio los elementos biológicos que conforman los tejidos de un órgano, (células, fibras, sustancias proteicas, grasa, glucógeno, etc.), es que cada componente estructural del tejido, capta diversamente un determinado colorante. Los componentes celulares y tisulares necesitan de un colorante específico, basado en la composición química de lo cual están constituidos. La cápsula del hígado, el colectivo interlobulares, los

límites celulares, tienen afinidad a la Hematoxilina Eosina, la hematoxilina colorea sustancias basófilas de un color azul-púrpura, y a las células y tejido conectivo de un color rosa. La hematoxilina férrica, colorea de marrón sangre a la cápsula de Glisson, espacios interlobulares. El colorante Hemalumbre-eosina, muestra a las fibras elásticas y límites de los vasos sanguíneos y del espacio portal de un color azul claro. El colorante Impregnación Argéntica de Golgi, colorea al estroma (fibras reticulares del conectivo) y límites celulares de los cordones hepáticos de un color marrón oscuro (Ham, 2013).

2.5. Anatomía del riñón

Los riñones relativamente grandes, representan del 1/50 al 1/200 del peso total del cuerpo, el peso del riñón de un perro, de tamaño medio es de unos 50 a 60 g; el riñón izquierdo por lo general es más pesado que el derecho. Ambos tienen forma de habichuela, son gruesos dorsoventralmente, presentan una superficie ventral redondeada y otra dorsal menos convexa; las superficies son lisas y de color rojo oscuro o rojo azulado. Los riñones son retroperitoneales y se localizan en la región sublumbar a los lados de la aorta y vena cava caudal. Ambos pueden palparse a través de la pared abdominal. El riñón derecho no está sujeto a tantas variaciones en posición, como el izquierdo; normalmente, está situado en posición opuesta al cuerpo de las tres primeras vértebras lumbares, pero puede estar craneal a la última vértebra torácica. Su mitad craneal, o más, asienta en la impresión renal profunda del hígado, la parte caudal está relacionada con los músculos sublumbares dorsalmente y con la rama derecha del páncreas y duodeno ventralmente. El riñón izquierdo está sujeto a algunas variaciones en cuanto a posición, esto se debe al hecho de que no está muy unido al peritoneo y está afectado por el grado de repleción del estómago. Estructura: El hilio está en la mitad del borde medio y es relativamente ancho. Los vasos renales, nervios y uréteres pasan a través del hilio. Este se abre en el seno renal. Está claramente

definido en corteza, zona limitante y médula. En la sección frontal se ve que la médula forma una cresta renal horizontal semejante al del caballo, pero con la diferencia importante de que las crestas curvadas continúan dorsal y ventralmente desde la cresta un poco en forma de lengüeta. Las secciones dorsal o ventral de la cresta renal, a menudo, cortan estas crestas de modo que les dan la apariencia de una papila cónica y, por tanto, tienden a producir una falsa impresión. La pelvis está adaptada a la posición de la médula. Está incluida dentro de una cavidad ventral, en la cual se proyecta la cresta renal y se prolonga hacia fuera entre las crestas, forma cavidades para esta y, por tanto simula la apariencia de cálices que no existen. Uréteres: Cada uréter es fibromuscular, se origina en la pelvis renal y desciende caudoventralmente a lo largo del músculo iliopsoas hasta la vejiga, su longitud es variable en el perro mide 12 a 16 cm. El uréter derecho es algo mayor dada la posición más craneal del riñón derecho (Sisson y Grossman, 1999).

2.6. Histología del riñón

El riñón es una glándula tubular compuesta de túbulos uriníferos, se divide en lóbulos y lobulillos, en algunas especies hay un solo lóbulo (hombre, rumiantes pequeños), en otros la lobulación puede persistir o puede existir una fusión secundaria (rumiantes). Un lóbulo consta de componentes corticales y medulares. La porción medular tiene una pirámide, cuya base ancha está en contacto con la corteza. Una o más pirámides se pueden unir para formar una papila, la porción apical y redondeada de la pirámide o pirámides que se proyecta dentro del cáliz menor. La punta de la papila es fenestrada (área cribosa), las perforaciones corresponden a las aberturas de los túbulos uriníferos en los cálices o la pelvis renal. Una papila se proyecta en un cáliz menor, los cálices son continuos en la pelvis renal. Los riñones unilobulares o unipiramidales son característicos de los carnívoros, pequeños rumiantes y caballos. El riñón tiene un solo lóbulo originado de la fusión

de varios lóbulos durante el desarrollo. Una papila única de base amplia forma la cresta renal que está en relación íntima con la porción expandida del uréter en la pelvis renal. El túbulo urinífero del riñón consiste de una neurona y un sistema de conductos colectores. La neurona es la porción del lóbulo urinífero que produce orina y consta de cápsula de Bowman, túbulo contorneado proximal, asa de Henle y túbulo contorneado distal. El glomérulo red de capilares arteriales y la cápsula de Bowman forma el corpúsculo renal. El sistema de túbulos colectores, que colecta, concentra y transporta la orina, consta de túbulos colectores arqueados, túbulos colectores rectos, y conductos papilares de Bellini (Banks, 1996).

2.7. Parámetros sanguíneos del canino

Serie eritrocítica: Hematocrito 45 (VPC, %); Hemoglobina 15 (g, %); Eritrocitos $6,8 (10^6/\text{mm}^3)$; Tamaño de los eritrocito $7,0 \mu\text{m}$; Plaquetas $550 (10^3/\text{mm}^3)$; VGM $7 (10^{-15} \text{ lt.})$; CMHG 34 (g/dl). Serie leucocitaria: Leucocitos $11,5 (10^3/\text{mm}^3)$, Neutrófilos maduros 70 %, Neutrófilos inmaduros 3 %; Linfocitos 20 %; Monocitos 5.0 %, Eosinófilos 4.0 %, Basófilos raros (%) (Cutts, 1998).

2.8. Índices eritrocíticos de Wintrobe

❖ Volumen Globular Medio (VGM):

Corresponde al volumen promedio que tienen los eritrocitos. Es un valor obtenido por cálculo matemático usando los resultados del análisis de sangre correspondiente al número de eritrocitos y porcentaje del hematocrito, la ilustración en este caso sería:

+Si la muestra de sangre arroja $6\,000,000$ de eritrocitos/ mm^3 y el VGA es de 42%

+ Resulta que en 1 mm³ de sangre los 6 000 000 de eritrocitos ocupan un volumen de 0.42 mm³

+ 1 mm³ = 1, 000' 000, 000 = 1 (10⁹) μ³

$$\text{Reemplazando: } \text{VGM} = \frac{0,42 \times 10^9}{6\,000,000 \times 10^6}$$

$$\text{VGM} = \frac{0,42 \times 10^3}{6\,000,000} = \frac{420}{6\,000,000} = 70 \mu^3 \text{ ó } 90 \text{ fl}$$

❖ Hemoglobina Globular Media (HGM)

La Hemoglobina Corpuscular Media (HCM) expresa la cantidad de hemoglobina presente en cada glóbulo rojo o el peso de la hemoglobina en el eritrocito.

1 g de hemoglobina = 10¹² microgramos (μg).

La hemoglobina se expresa en gramos/100 ml de sangre.

El número de eritrocitos en millones/mm³ de sangre, debe convertirse en número de glóbulos rojos por 100 ml de sangre.

Si hay 16 gramos de hemoglobina y 7 550,000 glóbulos rojos, la hemoglobina globular media = 21,19 μg (microgramos).

$$\frac{14 \times 10^{12}}{100 \text{ ml} \times 1000 \text{ mm}^3 \times 6\,000,000} = \frac{14\,000\,000\,000\,000}{600,000\,000,000} = \frac{140}{6} = 23,3 \mu\text{g}$$

❖ Concentración de Hemoglobina Globular Media (CHGM)

Este valor absoluto expresa en porcentaje, la concentración de Hb por unidad de volumen de eritrocitos. CHGM indica si los eritrocitos tienen una cantidad normal de Hg o escasa (Schalm, 1964).

$$\frac{\text{Hemoglobina en gramos/100 ml}}{\text{VGM en ml/ 100 ml}} \times 100 = \frac{14}{42} \times 100 = 33,3\%$$

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización

El presente estudio se llevó a cabo en la ciudad de Cajamarca. Las muestras fueron tomadas y analizadas en el Laboratorio de Embriología e Histología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca.

Datos Geográficos y Meteorológicos (*)

Altitud	2650 msnm
Temperatura máxima	20°C
Temperatura media	09°C
Temperatura mínima	7°C
Humedad relativa promedio anual	72%
Insolación promedio anual	3-6 horas/día

(*) Fuente: SENAMHI – Cajamarca 2016

3.2. MATERIALES

➤ **Material Biológico**

- Diez muestras de tejido renal de caninos seniles

➤ **Equipos de laboratorio**

- Microscopio compuesto binocular con cámara incorporada
- Micrótopo para parafina. Reichert (15 micras de corte)
- Estufa Eléctrica. Central Scientific
- Baño María eléctrica. Lipshaw Modelo 375
- Refrigeradora
- Cámara fotográfica digital

➤ **Reactivos**

- Xilol
- Hematoxilina
- Eosina
- Alcohol etílico absoluto
- Formaldehído bufferado

➤ **Materiales de laboratorio**

- Láminas porta y cubre objetos
- Vasos Coplin
- Frasco de vidrio 100 cc de capacidad
- Probetas de 100 cc

➤ **Materiales de protección y aseo**

- Mandil
- Botas de jebe

- Jabón
- Toalla

➤ **Materiales de escritorio**

- Papel bond
- Lapiceros
- Libreta de apuntes

3.3. METODOLOGÍA

❖ **Selección de los caninos**

Se seleccionaron 10 caninos criollos seniles callejeros que llegaron para el estudio de la asignatura de Anatomía Veterinaria.

❖ **Trabajo de Laboratorio**

Determinación de los parámetros sanguíneos, antes del sacrificio del canino: Se realizó los siguientes pasos:

1. Antes de sacrificio, con el animal en pie, se llevó a cabo la toma de muestra de sangre para los análisis de laboratorio de la serie eritrocítica y serie leucocitaria.
2. Posteriormente, se llevó a cabo la anestesia del canino, según protocolo, para el desangrado.
3. Antes de la formolización del canino, se llevó a cabo la toma de la muestra del tejido renal.
3. Para lo cual, se realizó la disección por la línea media hasta visualizar los riñones.
4. Luego, se llevó a cabo la toma de la muestra del tejido renal (1 cc).

5. El bloque del tejido renal se lo depositó en frascos de vidrio que contienen el fijador formaldehído bufferado al 10%.
6. Una vez que el tejido renal se ha fijado homogéneamente, se llevó a cabo la deshidratación del tejido renal con alcohol etílico (85%, 95%, 100%). Posteriormente, se llevó a cabo el aclaramiento en dos baños de Xilol, para luego realizar la inclusión del tejido renal en dos baños de parafina líquida a 60°C.
7. Las muestras en tacos de parafina se enviaron al Laboratorio de Histología de la ciudad de Lima-SENASA para que se lleve a cabo la coloración con Hematoxilina-Eosina (HE).

Para los cortes histopatológicos

Se llevó a cabo mediante el Método de Inclusión en Parafina-Coloración Hematoxilina Eosina.

El proceso de Microtomía, Coloración y Montaje se realizó en el Laboratorio de Histología SENASA-Lima. El Método de coloración es Hematoxilina Eosina (HE).

3.4. TRATAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

Los resultados del presente trabajo fueron analizados mediante Estadística Descriptiva.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

Tabla 1. Descripción general de caninos criollos seniles estudiados en el en presente trabajo.

Canino	Edad (años)	Sexo	Peso (Kg)	Diagnóstico histopatológico
1	13	M	14,0	RD. Nefritis difusa corteza renal RI. Necrosis difusa corteza y médula
2	10	M	12,5	Aparentemente normal
3	09	H	11,0	Aparentemente normal
4	11	M	13,0	RD. Glomerulonefritis-Necrosis-Hemorragia RI. Necrosis tubular y glomerular
5	11	H	10,0	Aparentemente normal
6	10	M	13,0	Aparentemente normal
7	09	M	11,0	RD. Pielonefritis RI. Aparentemente normal
8	10	H	12,0	RD. Atrofia-Necrosis tubular y glomerular RI. Pielonefritis
9	10	H	09,0	Aparentemente normal
10	08	H	12,8	Aparentemente normal

RD: Riñón derecho.

RI: Riñón izquierdo.

Tabla 2. Descripción de alteraciones histopatológicas: Inflamatorias, Degenerativas y Cuadros hemorrágicos.

Descripción patológica	Caninos machos		Caninos hembras	
	R.D.	R. I	R. D.	R. I.
Enfermedades Inflamatorias				
-Nefritis difusa de la corteza renal	x			
-Nefritis difusa corteza y médula renal		x		
-Glomerulonefritis	x			
-Pielonefritis	x	x		x
Enfermedades Degenerativas				
-Necrosis tubular			x	x
-Necrosis tubular y glomerular corteza y médula	x	x	x	
-atrofia			x	x
Cuadros hemorrágicos				
Hemorragia tubular y glomerular				

RD: Riñón derecho.

RI: Riñón izquierdo.

Tabla 3. Valores hematológicos de la serie eritrocítica encontrados en caninos criollos seniles.

Canino	Eritrocitos Por mm ³	Hemoglobina (g/100 ml)	Hematocrito (%)	VGM (micras)	HGM (μg)	CMHG (%)
1	2 800,000	07,0	27,0	96	25,0	26
2	7 550,000	16,0	54,0	72	21,7	30
3	7 360,000	16,1	54,2	73	22,7	30
4	3 100,000	06,0	30,0	97	19,4	20
5	8 860,000	15,7	49,4	55	18,0	32
6	5 960,000	14,0	46,4	77	23,4	30
7	7 150,000	14,8	49,8	70	21,0	30
8	3 600,000	08,0	22,0	61	22,2	36,3
9	8 100,000	17,1	56,6	70	21,0	30,2
10	7 110,000	16,0	52,4	73	22,5	31

VGM = Volumen Globular Medio

HGM = Hemoglobina Globular Media

CMHG= Concentración Media de Hemoglobina Globular

Tabla 4. Valores hematológicos de la serie leucocitaria encontrados en caninos criollos seniles.

Canino	Leucocitos (/mm³)	Neutrófilos abastionados (%)	Neutrófilos segmentados (%)	Eosinófilos (%)	Basófilos (%)	Linfocitos (%)	Monocitos (%)
1	6,150	05	67 - 62	05	0	22	06
2	28,000	02	77 - 75	00	0	17	06
3	9,500	00	69 - 69	00	0	21	10
4	8,150	02	63 - 61	04	0	28	05
5	12,700	02	71 - 69	00	0	37	12
6	19,600	01	64 - 63	00	0	27	09
7	15,200	00	70 - 70	00	0	23	07
8	7,230	01	60 - 59	06	0	29	05
9	23,500	02	53 - 51	00	0	38	09
10	10,300	00	70 - 70	00	0	21	09

DETALLES HISTOPATOLÓGICOS DE TEJIDO RENAL DE CANINOS CRIOLLOS SENILES

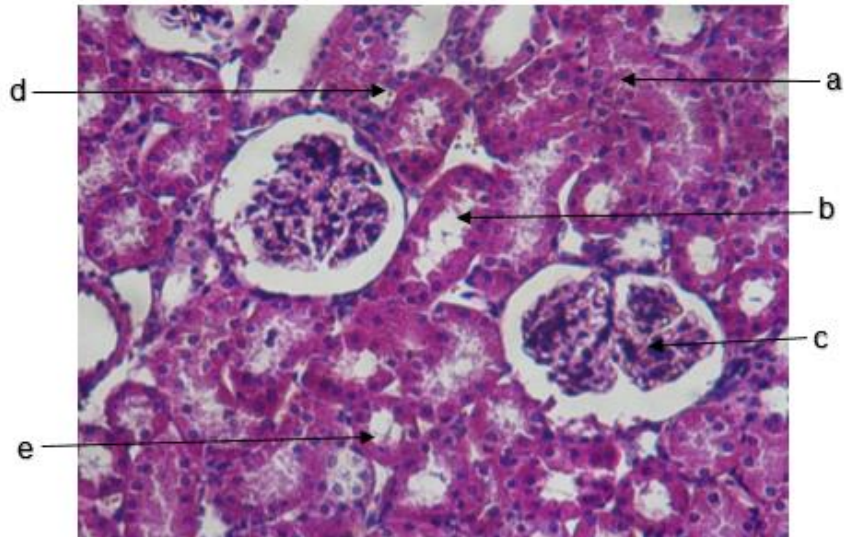


Fig. 1. Detalle panorámico del tejido parenquimatoso renal de un canino macho de 10 años de edad aparentemente sano. (a) Corteza (b) Túbulo contorneado proximal (c) glomérulo renal (d) Tejido intersticial (e) Túbulo renal medular.

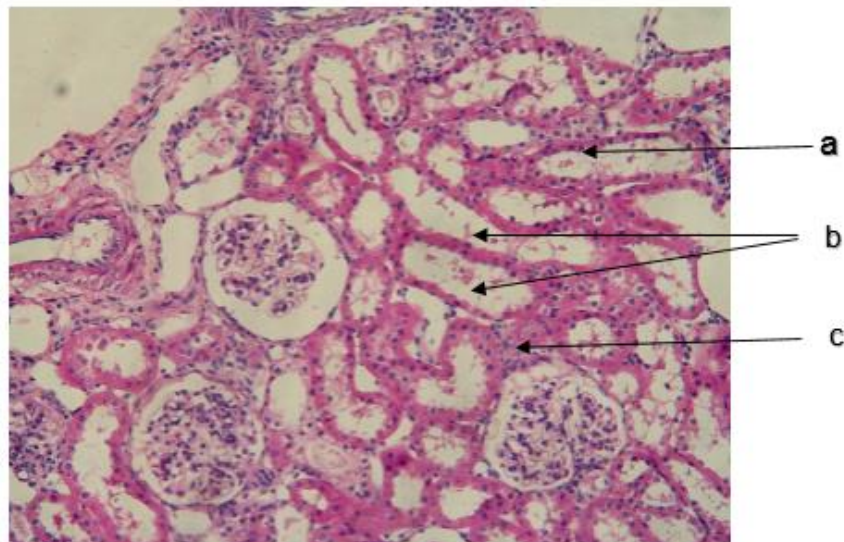


Fig. 2. Nefritis difusa de la corteza renal. Detalle histopatológico de la corteza renal del riñón derecho de un canino macho de 13 años de edad. (a) Corteza renal (b) Degeneración del epitelio tubular (c) Tejido inflamatorio. (10 X).

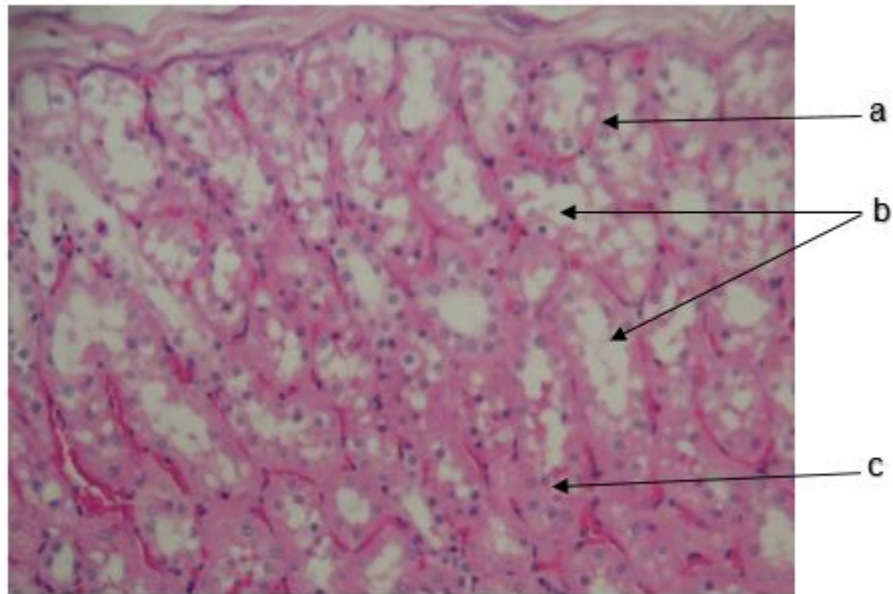


Fig. 3. Nefritis difusa de la corteza y médula renal. Detalle histopatológico de la corteza y médula del riñón izquierdo de un canino macho de 13 años de edad. **(a)** Corteza. **(b)** Degeneración del epitelio tubular **(c)** Médula. (10 X).

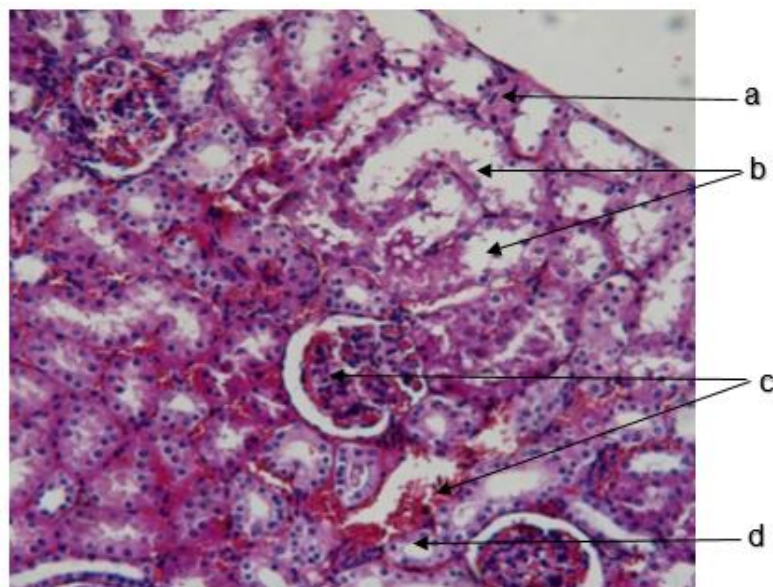


Fig. 4. Glomerulonefritis, Necrosis tubular, hemorragia tubular y glomerular de la corteza y médula renal. Detalle histopatológico de la corteza y médula del riñón derecho de un canino macho de 11 años de edad. **(a)** Corteza. **(b)** Necrosis tubular. **(c)** Hemorragia tubular y glomerular. **(d)** médula renal.

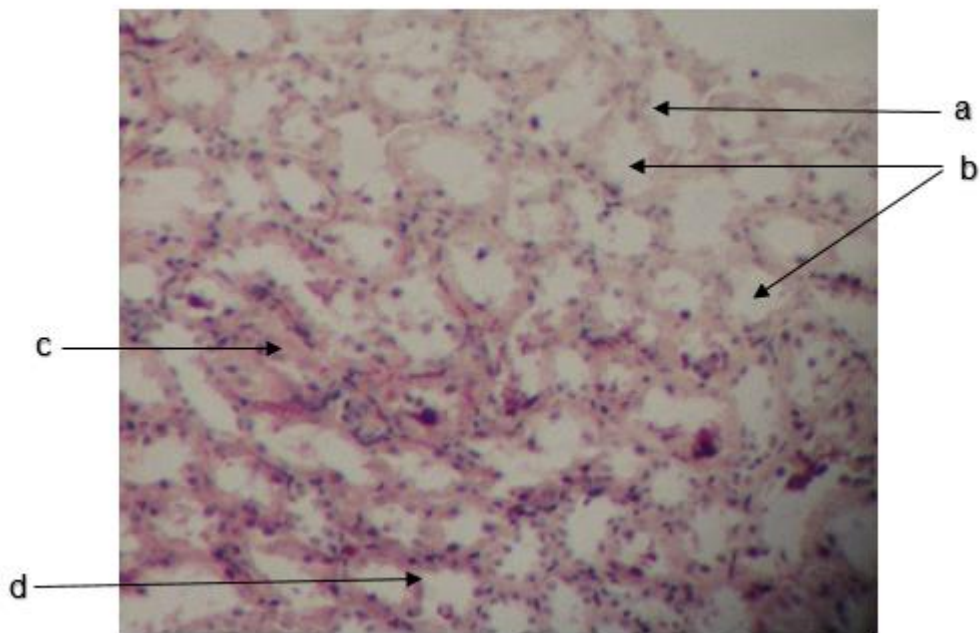


Fig. 5. Necrosis tubular y glomerular de la corteza y médula renal. Detalle histopatológico de la corteza y médula del riñón izquierdo de un canino macho de 11 años de edad. **(a)** Corteza **(b)** Necrosis tubular. **(c)** Necrosis glomerular. **(d)** Médula renal. (10 X).

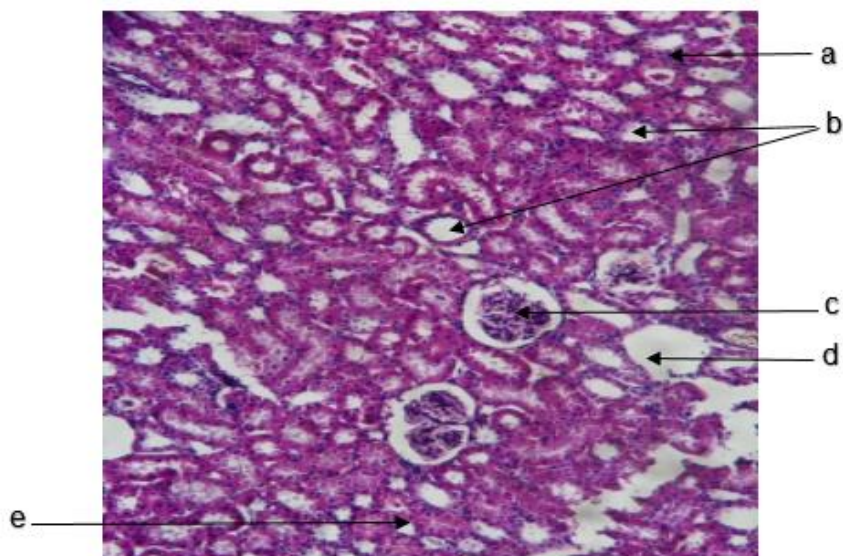


Fig. 6. Atrofia y necrosis tubular y glomerular de la corteza y médula renal. Detalle histopatológico de la corteza y médula del riñón derecho de un canino hembra de 10 años de edad. **(a)** Corteza. **(b)** Túbulo renales atróficos. **(c)** Glomérulos renales atróficos. **(d)** Focos necróticos. **(e)** Médula renal. (10 X).

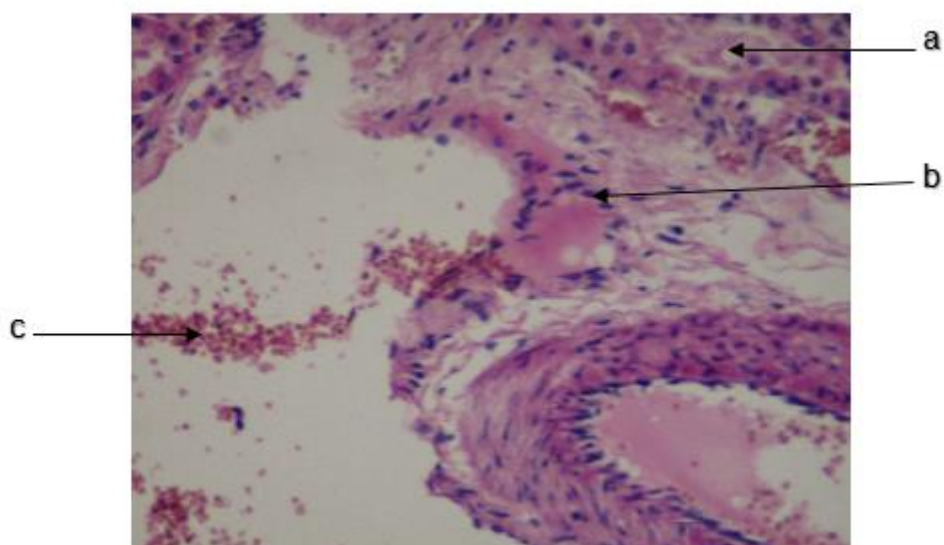


Fig. 7. Pielonefritis. Detalle histopatológico de la médula y pelvis del riñón izquierdo de un canino hembra de 10 años de edad. **(a)** Inflamación de la pelvis renal. **(b)** Vasos sanguíneos de la pelvis renal dilatados y con degeneración de toda la pared vascular. **(c)** Parénquima medular con degeneración de sus elementos parenquimatosos.

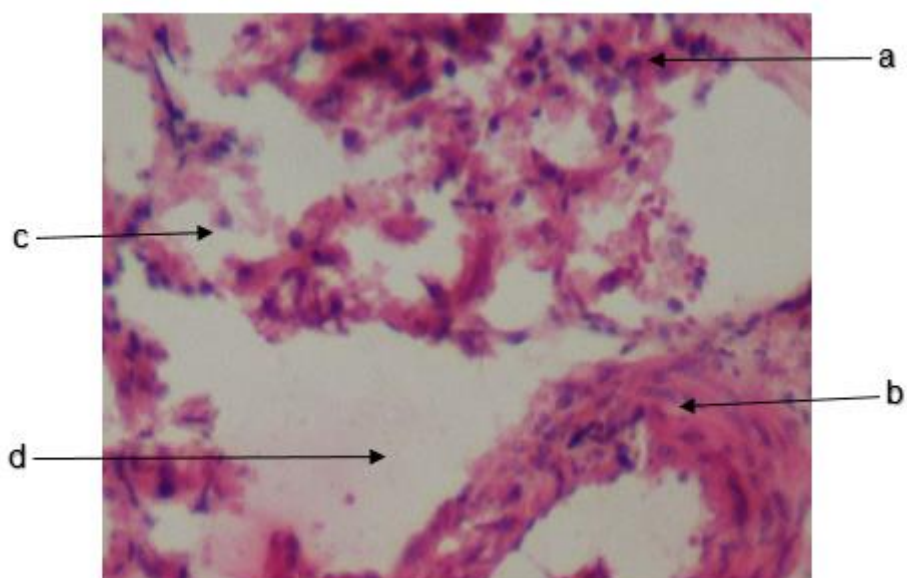


Fig. 8. Pielonefritis. Detalle histopatológico de la médula y pelvis del riñón derecho de un canino hembra de 09 años de edad. **(a)** Inflamación de la pelvis renal. **(b)** Vaso sanguíneo de la pelvis renal con degeneración de toda la pared vascular. **(c)** Parénquima medular con degeneración tubular. **(d)** Zonas necróticas en la médula renal.

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

En el presente trabajo de investigación se determinó trastornos inflamatorios, degenerativos y cuadros hemorrágicos difusos diagnosticados a través del estudio histopatológico del tejido renal de caninos criollos seniles, con la presentación de anemia. En la Figura 2, observamos un cuadro de nefritis difusa de la corteza renal del riñón derecho de un canino macho de 13 años de edad. En la Figura 3, el riñón izquierdo presenta nefritis difusa de la corteza y médula renal. En estos casos, los índices hematológicos de la serie eritrocítica y de la serie leucocitaria se encuentran por debajo de los valores normales mostrados en la Tabla 3 que corresponde al canino N° 1. **Harrinson, 2014**, manifiesta que la nefritis es la inflamación de los riñones causada por infección o por sustancias tóxicas determinando procesos inflamatorios crónicos, degenerativos en los túbulos, glomérulos, intersticio y pelvis renal. En el síndrome hepatorrenal los agentes etiológicos tóxicos llegan vía sanguínea al riñón y desencadenan los mismos cuadros inflamatorios y degenerativos presentes en el hígado, en el riñón, deterioran los túbulos, glomérulos, con compromiso del tejido intersticial.

Las Figuras 4 y 5, pertenecen a detalles histopatológicos del tejido renal de un canino macho de 11 años de edad. El riñón derecho presenta glomerulonefritis, necrosis tubular con hemorragia tubular y glomerular de la corteza y médula renal. El riñón izquierdo presenta Necrosis tubular y glomerular de la corteza y médula renal. Así mismo, en este caso, los índices hematológicos de la serie eritrocítica y de la serie leucocitaria se encuentran por debajo de los valores normales, mostrados en la Tabla 3. **Lee, 2005**, determina que las alteraciones degenerativas e inflamatorias crónicas del riñón, casi siempre afectan la función tubular y del glomérulo, con deterioro vascular. Las características más predominantes de esta

enfermedad son la degeneración epitelial tubular, necrosis glomerular y del parénquima renal, la pared y el endotelio de los vasos sanguíneos degenerados. **James, 2005**, manifiesta que la anemia de los animales suele ser resultado de un proceso patológico generalizado crónico renal; la anemia puede aparecer por pérdida de sangre por eritropoyesis disminuida o defectuosa.

Las Figuras 6 y 7, pertenecen a detalles histopatológicos de un canino hembra de 10 años de edad. El riñón derecho presenta atrofia y necrosis tubular y glomerular de la corteza y médula renal. El riñón izquierdo presenta pielonefritis comprometida la médula y pelvis renal. En estos trastornos inflamatorios y degenerativos difusos de los riñones, los valores hematológicos de la serie eritrocítica y leucocitaria observados en las tablas 3 y 4 se encuentran por debajo de los valores normales. Referente al caso, **Ferreira de la Cuesta, 2003**, determina que la nefritis en perros y gatos, puede ser aguda o crónica, focal o multifocal, dependiendo de la intensidad de la injuria y de la respuesta del huésped. Histológicamente hay infiltrado leucocitario, necrosis tubular multifocal. En la forma crónica existe fibrosis y atrofia tubular generalizada. **Harrison, 2014**, refiere que la nefritis purulenta difusa es la principal causa de la pielonefritis. La pielonefritis significa inflamación de la pelvis y del parénquima del riñón, afectando en primer lugar los vasos sanguíneos, dilatándolos y degenerando su endotelio vascular. **Ruiz, 2000**, expresa que en todas las formas de anemia existe disminución del número de eritrocitos, prioritariamente antes de atacar la causa, es necesario el tratamiento con la administración de la hormona eritropoyetina segregada en el riñón actúa en la eritropoyesis en la médula ósea y a la vez controla la anemia. **Jelkmann, 2007**, determina que el riñón produce el 90% de eritropoyetina. La eritropoyetina, es un factor estimulante eritropoyético, hormona glicoproteica que estimula la formación de eritrocitos y es el principal agente estimulador de la eritropoyesis natural. **Schroeder, 1999**, explica que la eritropoyetina producida en el riñón estimula las células madre de la médula ósea para que aumenten la producción de eritrocitos. Su acción principal es estimular la citopoyesis. La carencia de eritropoyetina

ocasiona anemia. **Ahmet, 2005**, refiere que como medicamento, la eritropoyetina recombinante o sus similares fabricados de forma biotecnológica se usan para tratamiento de la anemia en pacientes con enfermedad renal crónica (ERC). **Hib, 2001**, refiere que las anemias causadas por depresión selectiva de la eritrogénesis, determinan trastornos orgánicos, específicamente en nefritis intersticial crónica en caninos. Se ha determinado que el efecto importante de la eritropoyetina es estimular la producción de proeritroblastos a partir de las células madre hematopoyéticas en la médula ósea. En ausencia de la eritropoyetina, se forman pocos hematíes en la médula ósea.

En la Tabla 1, observamos que el canino N° 7, corresponde a un canino macho de 9 años de edad, presenta pielonefritis con compromiso de la médula y pelvis renal del riñón derecho. El riñón izquierdo aparentemente normal, en este caso, sus valores hematológicos eritrocíticos y leucocitarios presentan valores normales.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

Que los trastornos inflamatorios y degenerativos difusos que afectan a los tejidos del riñón de tres caninos criollos seniles, sus índices hematológicos de la serie eritrocítica y leucocitaria se encuentran por debajo de los valores normales, determinando cuadros de anemia.

CAPÍTULO VII

REFERERENCIAS

Ahmer, H. 2005. *Erythropoietin and the Nervous System*. Berlín: Springer. ISBN 0-387-30010-4. OCLC 64571745. (Internet) 24 de marzo de 2016. (Disponible)

<https://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/003423.htm>

Bancks, A. 1996. *Histología Veterinaria Aplicada*. Segunda Edición. Editorial Manual Moderno México. p.p. 480. (Internet) 12 de octubre del 2016. (Disponible) <http://ciartsbijengronen.nl/histología-veterinaria-aplicada-Bancks.htm>

Cutts, J. Harry. 1984. *Histología*. Cuarta Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. Argentina. (Internet) 22 de abril del 2016. (Disponible)

<http://www.libreroonline.com/argentina/libros/127418/krause-william-j-cutts-j-harry/histologia.html>

Ham, Arthur. 2013. *Tratado de Histología*. Novena Edición. Editorial Interamericana. Caracas Venezuela pp. 935. (Internet) 21 julio 2016. (Disponible) <http://listado.Libros-ciencias-médicas-naturales/tratado-de-histología-Artur-w-ham>

Guyton & Hall. 2011. *Tratado De Fisiología Médica*. Doceava Edición. Editorial J.E. HALL S.A. ELSEVIER España. p.p. 1112. (Internet) 13 de febrero del 2016. (Disponible) <HTTP://WWW.CASADELLIBRO.COM/LIBRO-GUYTON--HALL-TRATADO-DE-FISIOLOGIA-MEDICA-12-ED/9788480868198/1851753>

Harrison. 2014. Principios de Medicina Interna. Dieciochoava Edición. Editorial Interamericana McGRAW-Hill Nueva York Estados Unidos de Norte América. p.p. 3029 (Internet) 22 de noviembre del 2016. (Disponible) <http://mcgraw-hill.com.mx/harrison.pdf>

Hib, R. 2001. Histología Veterinaria. Primera Edición. Editorial Ateneo. Buenos Aires Argentina. p.p. 427. (Internet) 16 de marzo del 2016. (Disponible) <http://www.laleo.com/histologia-de-di-fiore-texto-atlas-p-8168.html>

Ferreira de la Cuesta, G. 2003. Patología Veterinaria. Primera Edición. Editorial Universidad de Antioquia. Colección Ciencia y tecnología. ISBN: 958-655-549-6 ISBN: 958-655-081-8 Obra Completa. p.p.609

James, G. 2005. Fisiología Veterinaria. Quinta Edición. Editorial S.A. ELSEVIER Barcelona España, 2005. p.p 588. (Internet) 22 de marzo del 2016. (Disponible) <http://www.casadellibro.com/libro-fisiologia-veterinaria-3-ed/9788481746594/1017996>

Jkmann, W. 2007. Erythropoietin after a century of research: younger than ever. *Eur. J. Haematol.* **78** (3): 183–205. doi:10.1111/j.1600-0609.2007.00818.x. PMID 17253966. (Internet) 12 de mayo del 2016. (Disponible) <https://es.wikipedia.org/wiki/Eritropoyetina>

Lee, T. 2005. Medicina Veterinaria. Skin Diseases of the dog and cat: clinical and histopathologic diagnosis, 2nd edition. Editorial Wiley-Blackwell. SBN: 9780632064526
p.p. 944. (Internet) 16 de febrero del 2016. (Disponible) <http://www.antoniogoliveira.com/area/artigo/skin-diseases-of-the-dog-and-cat-clinical-and-histopathologic-diagnosis-2nd-edition/>

Ruiz, R. 2000. Semiología Médica. Tercera Edición. Editorial TAIDE. Barcelona. España. Integrante de la Real academia de Medicina y Cirugía de Barcelona. P.p. 72-74 Schroeder, H. 1999. Fisiopatología. Primera Edición. Editorial Médica Celsus. Buenos Aires Argentina. p.p. 878. (Internet) 13 de marzo de 2016. (Disponible)
<http://www.celsus.com.co/pagina/libro.php?ID=5364>

Schalm. 1964. Hematología Veterinaria. Primera Edición. Editorial Unión Tipográfica Hispano Americana México. p. p. 403.

Krause, W. y Cutts, J. 1984. Histología. Primera Edición. Editorial: Médica Panamericana. Buenos Aires Argentina. (Internet) 23 de marzo del 2016. (Disponible)
<http://www.libreroonline.com/argentina/libros/127418/krause-william-j-cutts-j-harry/histologia.html>

ANEXO 01

TESTIMONIOS FOTOGRÁFICOS QUE MUESTRAN LOS PASOS DE LA METODOLOGÍA



Fig. 9. Laboratorio de Embriología e Histología Veterinaria. Aplicación del anestésico, según protocolo.



Fig. 10. Laboratorio de Embriología e Histología Veterinaria. **Exposición de los riñones para la observación macroscópica y toma de la muestra.**



Fig. 11. Laboratorio de Embriología e Histología Veterinaria. **Toma de la muestra y fijación** en formaldehído bufferado al 10%, para proseguir con la Técnica de Inclusión en Parafina. Coloración Hematxilina-Eosina (H.E.)

ANEXO 02

TÉCNICA DE INCLUSIÓN EN PARAFINA. LABORATORIO DE EMBRIOLOGÍA E HISTOLOGÍA VETERINARIA



Fig. 12. DESHIDRATACIÓN. En cinco baños de alcohol etílico a concentraciones ascendentes (85 %, 95 %, 95%, 100% y 100%).



Fig. 13. ACLARAMIENTO. En tres baños de Xilol, por tres horas. Una hora en cada baño.



Fig. 14. INCLUSIÓN EN PARAFINA. En dos baños de parafina diluida a temperatura de derretimiento (60°C).



Fig. 15. CONFECCIÓN DE TACOS DE PARAFINA. En moldes metálicos se coloca el bloque de tejido renal y se llena con parafina diluida.



Fig. 16. DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO. Laboratorio de Biología de la Facultad de Educación. UNC.



Fig. 17. MICROFOTOGRAFÍA. Laboratorio de Biología de la Facultad de Educación. UNC.

ANEXO 03

Método de inclusión en Parafina- Coloración Hematoxilina Eosina

- 1. Fijación.** Obtenidos los tacos de tejido renal de canino, permanecerán en una solución de formaldehído bufferado al 10%, hasta que el tejido se encuentre fijado homogéneamente, no presente tejido vivo, cambie de color y presente una textura dura para facilitar el corte. Obtenidas estas características físico-químicas, los bloques se lavarán en agua corriente por 5 a 10 minutos, tiempo necesario para eliminar el exceso del fijador.
- 2. Deshidratación.** Una vez lavada la muestra, los bloques de tejido serán sometidos a 6 baños de alcohol en vasos Coplin de concentraciones ascendentes (alcohol de 80°, 95°, 95°, 100°, 100° y 100°).
- 3. Aclaramiento.** Efecto de transparentación de las muestras con xileno en tres baños una hora cada uno.
- 4. Impregnación.** Terminado el proceso de Aclaramiento por tres horas, las muestras se colocarán en vasos de precipitación que contiene la parafina diluida a temperaturas de derretimiento (55-60°C). Tres baños de 2 horas cada uno.
- 5. Inclusión.** Las muestras que permanecen en parafina diluida por tres baños, se colocarán en pequeños moldes metálicos para la confección de tacos de parafina que incluyen los bloques de tejido. Posteriormente, se dejará enfriar, hasta que éstos se encuentren listos para incorporarlo en el micrótopo de rotación.