

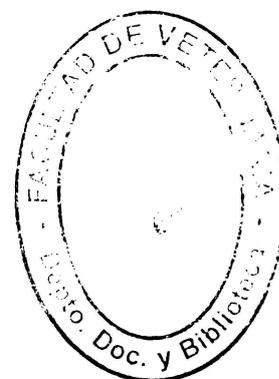
UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LA MORFOLOGÍA CELULAR FRENTE AL
IMPLANTE SUBCUTÁNEO DE POLIPROPILENO Y DE POLIETILENO EN RATAS
DE LABORATORIO**

“por”

Sandra PASTORINO MARTICORENA
Helen VIOTTI CRESCI



TESIS DE GRADO presentada como uno
de los requisitos para obtener el título de
Doctor en Ciencias Veterinarias.

Orientación: Higiene, Inspección, Control
y Tecnología de los Alimentos.

MODALIDAD Ensayo Experimental

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2008**

104 TG
Estudio compara
Pastorino, Sandra



FV/28015

PÁGINA DE APROBACIÓN

TESIS DE GRADO aprobada por:

Presidente de Mesa:

Dr. Eugenio Perdomo

Segundo Miembro (Tutor):



Dr. Richard Möller

Tercer Miembro:



Dr. Antonio Moraña

Cotutor:



Dra. Graciela Pedrana

Fecha:

29 de octubre de 2008

Autores:



Helen Viotti

Sandra Pastorino

AGRADECIMIENTOS

- 1. A los Dres. Richard Möller y Graciela Pedrana (Facultad de Veterinaria) quienes nos apoyaron y guiaron en esta investigación, y sin los cuales este trabajo no hubiera sido posible.**
- 2. Al Dr. Álvaro Freyre (Facultad de Veterinaria) por proporcionarnos animales para este trabajo.**
- 3. Al Bioterio del Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable por proporcionarnos animales para este trabajo.**
- 4. A la Cátedra de Enfermedades Infecto-contagiosas por el préstamo de las instalaciones para el cuidado de las ratas intervenidas quirúrgicamente.**
- 5. Al Dr. Alejandro Bielli (Cátedra de Histología Embriología y Desarrollo) por permitimos trabajar en el laboratorio y en el Laboratorio de Análisis de imágenes, Área de Histología, Facultad de Veterinaria.**
- 6. A la Cátedra de Patología Funcional y Morfológica por prestarnos sus instalaciones para el procesamiento de muestras.**
- 7. A la Técnica en Laboratorio Mónica Viqueira por su apoyo en el trabajo histológico.**
- 8. A la Dra. Raquel Correa Luna por su colaboración en la parte estadística.**
- 9. Al personal de Biblioteca de la Facultad de Veterinaria y Facultad de Medicina.**
- 10. A nuestros familiares y amigos que de una u otra manera colaboraron con la realización de esta tesis.**
- 11. Y, a todas las personas, que directa o indirectamente nos ayudaron.**

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS.....	IV
1. RESUMEN.....	1
2. SUMMARY.....	1
3. INTRODUCCIÓN.....	2
4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
4.1 HERNIA PERINEAL.....	3
4.1.1 Definición y epidemiología.....	3
4.1.2 Etiología y factores predisponentes.....	3
4.1.3 Patogenia.....	4
4.1.4 Signos clínicos.....	4
4.1.5 Diagnóstico y diagnóstico diferencial.....	5
4.1.6 Tratamiento y pronóstico.....	5
4.2 MATERIALES QUIRÚRGICOS.....	7
4.2.1 Materiales sintéticos.....	7
4.2.1.1 Polipropileno.....	7
4.2.1.2 Ensayos con polipropileno.....	8
4.2.1.3 Polietileno.....	10
4.2.1.4 Ensayo con polietileno.....	11
4.3 EPITELIO Y TEJIDO CONJUNTIVO.....	12
4.3.1 Piel.....	12
4.3.1.1 Epidermis.....	12
4.3.1.2 Dermis.....	14
4.3.2 Tejido conjuntivo.....	15
4.3.2.1 Células del conjuntivo.....	16
4.4 INFLAMACIÓN.....	18
4.4.1 Generalidades.....	18
4.4.2 Inflamación aguda.....	19
4.4.2.1 Acontecimientos celulares.....	22
4.4.3 Inflamación crónica.....	24
4.4.3.1 Inflamación crónica granulomatosa.....	25
4.4.3.2 Inflamación crónica no granulomatosa.....	25
4.4.4 Funciones de las células inflamatorias.....	25
4.5 ANIMALES DE LABORATORIO.....	26
5. OBJETIVOS.....	28
6. HIPÓTESIS.....	28
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
7.1 Animales.....	29
7.2 Diseño experimental.....	29
7.3 Técnica quirúrgica y obtención de muestras.....	30
7.4 Procesamiento histológico.....	31
7.5 Análisis histológico cuantitativo.....	32
7.6 Análisis estadístico.....	32

8. RESULTADOS	33
9. DISCUSIÓN	40
10. CONCLUSIONES	43
11. BIBLIOGRAFÍA	44

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

	Página
Cuadro 1. Total de muestras procesadas.....	32
Cuadro 2. Valores de p para los diferentes tipos celulares relacionado tratamiento por día; y animal entre días postoperatorio.....	38
Figura 1. Imagen que ilustra las regiones donde se colocaron los diferentes tipos de implante.....	29
Figura 2. Corte histológico a los 14 días de implante.....	34
Figura 3. Corte histológico a los 28 días de implante.....	34
Figura 4. Corte histológico a los 42 días de implante.....	35
Figura 5. Corte histológico a los 56 días de implante.....	35
Tabla I. Conteo total de células inflamatorias.....	33
Tabla II. Análisis estadístico descriptivo en el día 14 de sacrificio.....	36
Tabla III. Análisis estadístico descriptivo en el día 28 de sacrificio.....	36
Tabla IV. Análisis estadístico descriptivo en el día 42 de sacrificio.....	37
Tabla V. Análisis estadístico descriptivo en el día 56 de sacrificio.....	37
Gráfico I. Número de neutrófilos a lo largo del tiempo para ambos tratamientos.....	38
Gráfico II. Número de linfocitos a lo largo del tiempo para ambos tratamientos.....	39
Gráfico III. Número de fibroblastos a lo largo del tiempo para ambos tratamientos.....	39



1) RESUMEN

Es conocido desde hace tiempo el uso de materiales sintéticos como las mallas de polipropileno en el tratamiento de hernias en perros y gatos. Éste es un material termoplástico cuyo costo en el mercado es considerablemente elevado. Nuestro ensayo experimental pretende comparar estadísticamente la reacción histológica producida por éste material y otro similar en sus propiedades físico-químicas pero de un precio menor: el polietileno de alta densidad. Se utilizaron 20 ratas (*Rattus norvegicus*) de la cepa Wistar a las cuales se les implantó en la región del flanco izquierdo una malla de 1cm.² de polipropileno y en el flanco derecho una de polietileno con las mismas dimensiones por medio de una intervención quirúrgica. Los animales fueron sacrificados (a los días 14, 28, 42 y 56 posteriores a la cirugía), se retiraron las mallas y el tejido circundante para el posterior procesamiento y estudio histológico. Tres de los ocho tipos celulares estudiados mostraron valores destacados en los dos tratamientos y diferencias estadísticamente significativas. Los resultados obtenidos permiten concluir que hubo una reacción inflamatoria crónica similar, a consecuencia de los 2 tipos de implantes. La respuesta celular a los implantes fue similar para ambos materiales, por lo tanto no se encontraría impedimento para sustituir el uso de polipropileno por el de polietileno de alta densidad en la reconstrucción quirúrgica de hernias.

2) SUMMARY

It is well known the use of synthetic materials such as polypropylene mesh in the treatment of hernias in dogs and cats. This is a thermoplastic material which cost in the market is considerably high. Our pilot test aims to statistically compare the histological reaction produced by this material and another similar, in their physicochemical properties but with a lower price: the high-density polyethylene. We used 20 rats (*Rattus norvegicus*) from the Wistar strain to which through surgery were introduced in the region of the left flank a mesh of 1cm² polypropylene and in the right flank one of polyethylene with the same dimensions. The animals were sacrificed (on 14, 28, 42 and 56 post-surgery). Both the meshes and the surrounding tissue were removed for further processing, and a histological study was conducted. Three out of the eight cell types studied showed outstanding values in the two treatments and statistically significant differences. The findings suggest that there was a similar chronic inflammatory reaction because of the 2 types of implants. The cellular response to the implants was similar in both materials; therefore there wouldn't be any impediment to replace the use of polypropylene by the high-density polyethylene in the surgical reconstruction of hernias.

3) INTRODUCCIÓN

Las hernias perineales en pequeños animales son causa de consulta en el Hospital de la Facultad de Veterinaria de nuestro país. Los perros machos adultos sin castrar son los más afectados, aunque la hernia perineal ha sido observada en algunos gatos (Sherding, 2002). Es raro que se presente en hembras (perras). Las razas más predispuestas son aquellas donde la cola ha sido cortada o es rudimentaria en forma congénita (Ormrod, 1969).

En la hernia perineal los músculos se separan permitiendo que el contenido de la cavidad pelviana o abdominal desplacen a la piel del periné y se manifiesten como una deformación en más (Hedlund, 2004). La hernia normalmente contiene un fondo de saco que contiene a la vejiga y a veces parte del recto. Puede ser uni o bilateral, las unilaterales se producen predominantemente en el lado derecho (Sherding, 2002). Se observa una tumefacción en forma de bolsa; localizada entre la base de la cola y el ano medialmente, y la tuberosidad isquiática y el ligamento sacrotuberal lateralmente. El saco herniario está formado de piel y tejido celular subcutáneo, frecuentemente con ausencia de peritoneo (Smythe y Shuttleworth, 1977; Ormrod, 1969).

La etiología exacta de ésta afección se desconoce. Se piensa que el debilitamiento de la musculatura del diafragma pelviano se asocia a factores tales como las hormonas masculinas, el esfuerzo en la defecación, y la debilidad o atrofia muscular adquirida o congénita (Ormrod, 1969; Sherding, 2002; Hedlund, 2004; Mortari y Canevese, 2005).

El tratamiento médico consiste en evitar el estreñimiento, la disuria y el estrangulamiento visceral. Se recomienda en todos los casos la herniorrafia como medida para evitar el atrapamiento y la estrangulación visceral, ya que éstas ponen en riesgo la vida del animal (Hedlund, 2004). La castración de los perros con hernia perineal leve puede prevenir la progresión de la patología (Sherding, 2002). También se recomienda la castración al realizar la herniorrafia (Hedlund, 2004; López y col., 2004).

Hay diferentes técnicas para la herniorrafia perineal, algunas son: el reposicionamiento anatómico y síntesis de los músculos elevador del ano y coccígeo, la transposición del músculo obturador interno, la transposición del músculo glúteo superficial, la transposición del músculo semitendinoso, la implantación de mallas y la división anal. La colocación de mallas se realiza sobre todo cuando la hernia es recurrente y los músculos del periné están atrofiados (Hedlund, 2004).

Desde hace tiempo se han empleado mallas de polipropileno para la resolución de estos tipos de hernias con buenos resultados. (Matera y col., 1981).

El polipropileno se obtiene por polimerización y pertenece al grupo de termoplásticos semicristalinos (Artie, 1990). Algunas de sus propiedades físico-químicas son: baja densidad; alta rigidez, dureza y resistencia térmica (hasta más de 100 °C); resistente a los ácidos o álcalis inorgánicos débiles, alcoholes y algunos aceites; y es opaco e incoloro (Nicholson, 2006).

En Medicina Veterinaria y Humana el polipropileno se usa en la fabricación de sondas nasogástricas y uretrales, cánulas ruminales e intestinales, etc.; lo que demuestra sus múltiples usos *in vivo* y la adaptación de los tejidos a los polímeros (Wheeler y González, 1998).

Este trabajo experimental de tesis de grado tiene como finalidad el estudio de la morfología celular en ciertos tejidos animales en respuesta al implante de polipropileno y de polietileno de alta densidad para su posterior comparación.

El polietileno es un material termoplástico blanquecino, de transparente a translúcido, y es frecuentemente fabricado en finas láminas (Arlie, 1990). Algunas de las propiedades que hacen del polietileno una materia prima tan conveniente son: poco peso, flexibilidad, tenacidad, alta resistencia química (Nicholson, 2006). En general hay dos tipos de polietileno: el de baja densidad que tiene una estructura de cadena enramada, y el polietileno de alta densidad que tiene esencialmente una estructura de cadena recta (Arlie, 1990).

Se eligió el polietileno de alta densidad como material alternativo al polipropileno por su bajo costo económico.

4) REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1 HERNIA PERINEAL EN PERROS Y GATOS.

4.1.1 Definición y epidemiología.

La hernia perineal es la consecuencia del debilitamiento de los músculos del diafragma pelviano que es el límite caudal del tronco. Los músculos y fascias de la región fallan en su función de soportar a la pared rectal. Se facilita con ello la distensión rectal (comúnmente a causa de divertículos rectales), permitiendo que la ampolla rectal se desvíe hacia lateral, con desplazamiento del contenido de la cavidad pelviana o abdominal hacia la piel perineal alterando la defecación generando un círculo vicioso de tenesmo (Matera y col., 1981; Sherding, 2002; Hedlund, 2004; Mortari y Canevese, 2005; Willard, 2005).

La mayoría de las hernias perineales se dan en perros machos, especialmente si no están castrados, y rara vez en hembras porque su diafragma pelviano es más fuerte. Cuando se producen hernias perineales ha menudo se asocian a traumatismos por parte de los propietarios. La mayor incidencia se da entre los 7 a 9 años de edad, pero puede registrarse a cualquier edad. El proceso puede ser uni o bilateral, generalmente los casos son unilaterales y algunos estudios han descrito una mayor incidencia en el lado derecho (Sherding, 2002). Los perros de cola corta pueden ser más susceptibles a desarrollar una hernia. Algunas razas son más predispuestas a padecer la patología como son: boston terrier, pequinés, collies, corgi inglés, bóxer, caniches y los cruza (Matera y col., 1981; Hedlund, 2004; Mortari y Canevese, 2005; Willard, 2005).

En los gatos, las hernias perineales se producen con mayor incidencia de forma bilateral y en machos castrados. La aparición en gatas es más frecuente que en perras (Hedlund, 2004).

4.1.2 Etiología y factores predisponentes.

La causa exacta de fragilidad muscular es desconocida, algunos factores que han sido propuestos son: atrofia muscular neurogénica o senil de los músculos elevadores del ano, miopatías, aumento del volumen de la próstata, constipación

crónica, alteraciones de algunas hormonas y esfuerzos en la defecación (Hedlund, 2004; Mortari y Canevese, 2005; Sherding, 2007).

El desequilibrio endocrino es citado como causa de hernia perineal pues los animales pueden presentar procesos prostáticos (Matera y col., 1981).

La mayoría son perros machos de edad avanzada, las pruebas que apoyan esto son que los castrados no suelen tener hernias perineales. Sin embargo, no se ha encontrado diferencia entre la concentración de testosterona y 17-beta estrógenos entre perros normales y con hernia perineal. Se dice que más que la concentración de hormonas, el número o afinidad de los receptores de las mismas puede ser el causante del desarrollo de debilidad muscular perineal. Otro factor es que en perros machos los músculos elevadores del ano son más débiles y delgados y se unen más débilmente al esfínter anal externo. Las razas braquicéfalas están más predispuestas, lo cual indica que un defecto anatómico o específico de la raza es importante. La lesión del nervio pudendo o el primero, segundo o tercer nervio sacro, que da atrofia neurógena de los músculos elevadores del ano podría ser otra causa, sin embargo, no se sabe si la lesión se produce antes que se desarrolle la hernia o es una consecuencia de la misma (Sherding, 2007).

En los gatos con hernias perineales, el estreñimiento crónico grave o el megacolon coexistente es el factor predisponente más común (Sherding, 2007).

4.1.3 Patogenia.

No se conoce completamente la patogenia de las hernias perineales pero se ha pensado en la influencia de las hormonas gonadales (Sherding, 2007).

En general, la hernia perineal, ocurre entre los músculos esfínter externo del ano y elevador del ano, ocasionalmente, entre los músculos elevador del ano y coccígeo (Mortari y Canevese, 2005).

Se han descrito cuatro tipos de hernia perineal en función de los músculos que se han separado: caudal, ciática, dorsal y ventral. El tipo más común es la hernia caudoventral, que se produce entre los músculos elevador del ano, esfínter anal externo y obturador interno. Las ciáticas entre el ligamento sacrotuberoso y el músculo coccígeo; las dorsales entre el elevador del ano y la musculatura coccígea; y las ventrales entre los músculos isquiouretral, bulbocavernoso e isquiocavernoso (Hedlund, 2004; Sherding, 2007).

La herniación puede afectar solo a tejidos rectales, aunque puede producirse el prolapso de los órganos como la vejiga urinaria, la próstata u otros tejidos abdominales (grasa retroperitoneal, intestino) dentro de la zona debilitada. Puede haber presencia de fluido seroso y nódulos de coloración crema a púrpura-marrón (Sherding, 2002; Hedlund, 2004; Mortari y Canevese, 2005; Sherding, 2007).

Los defectos rectales asociados con la hernia perineal se han clasificado en: saculación (pérdida unilateral de soporte que permite la expansión de la pared rectal a un lado), dilatación (pérdida bilateral de soporte que permite la distensión generalizada del recto), desviación o flexura (el recto se curva o dobla hacia un lado dentro del saco de la hernia) y, divertículo (fondo de saco de la mucosa a través de un defecto de la pared rectal) (Sherding, 2002).

4.1.4 Signos clínicos.

Los más citados son: tenesmo, constipación y aumento de volumen perineal que puede ser reducible o no, estreñimiento, disquecia y hematoquecia. La disuria y la estranguria acompañan a la enfermedad rectoanal si la vejiga está retroflexionada y



atrapada en la fosa isquiorrectal. La herniación de la vejiga también puede ocasionar uremia postrenal grave con depresión y vómito (Mortari y Canevese, 2005; Willard, 2005; Sherding, 2007).

4.1.5 Diagnóstico y diagnóstico diferencial.

Se basa en la historia clínica, signos clínicos, exámenes físicos, radiografía y ultrasonografía. La exploración física suele revelar una dilatación perineal visible o reductible. La palpación externa de un defecto de la musculatura lateralmente al esfínter anal externo suele ser suficiente para confirmar la hernia (Mortari y Canevese, 2005; Sherding, 2007).

La palpación rectal es uno de los exámenes más importantes, puede posibilitar la determinación de estructuras que forman el aumento de volumen, verificar la presencia de dislocamiento o dilatación rectal, y evaluar la textura y tamaño de la próstata (Mortari y Canevese, 2005).

Si existen dudas por tacto rectal se puede confirmar por ultrasonografía, radiología, cateterización vesical o debería aspirarse el área tumefacta (después de la imagenología) para ver si hay orina y para determinar la extensión del contenido de la hernia antes de la reparación (Sherding, 2007).

Para el diagnóstico diferencial se debe tener en cuenta: divertículos rectales, neoplasias, quistes prostáticos o paraprostáticos y seromas/hematomas (Sherding, 2007).

4.1.6 Tratamiento y pronóstico.

En los perros en que no es posible la reparación quirúrgica, el abordaje del tratamiento consiste en reducir el volumen de las heces, la impactación y los esfuerzos en la defecación. Esto es logrado con una dieta baja en residuos y administrando ablandadores de las heces, laxantes y enemas cuando sea necesario. En la mayoría de los casos, este tratamiento no es útil a largo plazo (Sherding, 2002; Sherding, 2007).

La operación quirúrgica definitiva (herniorrafia perineal) es el tratamiento de elección en la mayoría de los casos. Su objetivo principal es reemplazar la sujeción muscular del diafragma pelviano (Sherding, 2007).

Varios días antes de la cirugía deben administrarse ablandadores de heces y dieta muy digerible. Antes del procedimiento quirúrgico el recto debe ser vaciado y la vejiga urinaria cateterizada con sonda uretral si está retroflexionada y atrapada dentro de la hernia. Si el sondaje no tiene éxito debe vaciarse mediante cistocentesis. Cuando la vejiga está descomprimida, se reduce la hernia y la vejiga se empuja hacia atrás, hacia dentro de la cavidad abdominal. Deben hacerse cultivos de orina y administrarse los antibióticos adecuados en todos los animales con hernia perineal en los que la vejiga esté atrapada. Se recomiendan antibióticos preoperatorios para la protección contra la contaminación por coliformes entéricos (Mortari y Canevese, 2005; Sherding, 2007). Los animales con uremia postrenal constituyen una emergencia, la vejiga debe vaciarse y recolocarse y se deben dar líquidos por vía intravenosa (Willard, 2005).

Hay diferentes técnicas para la herniorrafia perineal. Para poder aplicarlas es necesario conocer la anatomía quirúrgica de la región a intervenir.

Las estructuras más comúnmente implicadas en la herniorrafia incluyen la musculatura del diafragma pelviano, el piso de la pelvis y ano, además del ligamento sacrotuberoso. El diafragma pelviano se compone del músculo cocciógeo y del

músculo elevador del ano. El músculo coccígeo se sitúa en posición craneo-lateral al músculo elevador del ano. Este músculo dirige la cola contra el ano y los genitales externos, incurvando así el rabo entre los miembros. El músculo elevador del ano se origina a partir del borde medial del cuerpo del ileon y de la superficie interna del *ramus* púbico y sínfisis isquiopubiana; se irradia en sentido dorsal, formando un abanico a los lados del recto y se inserta sobre las vértebras caudales llegando hasta la séptima vértebra caudal. Rodea al ano y es necesario para mantener la continencia fecal. El ligamento sacrotuberoso constituye una banda fibrosa que recorre el trayecto desde los procesos transversos de las últimas vértebras sacras y las primeras caudales hasta el ángulo lateral de la tuberosidad isquiática ubicado craneolateralmente al diafragma pelviano (Hedlund, 2004).

El nervio ciático se sitúa inmediatamente craneal y lateral al ligamento sacrotuberoso. El músculo obturador interno es un músculo en forma de abanico ubicado en el piso de la pelvis, que cubre la superficie dorsal del isquion. Otros músculos que se han utilizado durante la herniorrafia perineal incluyen los músculos glúteo superficial y semitendinoso. El glúteo superficial es un músculo pequeño que se sitúa en posición caudal al músculo glúteo medio, con sus fibras dirigidas distalmente. El músculo semitendinoso se sitúa en la parte caudal del muslo, entre el músculo bíceps femoral y el músculo semimembranoso (Hedlund, 2004).

La reparación tradicional implica el cierre del área triangular formada por el esfínter anal externo, los músculos elevador del ano, coccígeo y obturador. Con este método la proporción de recidivas de la hernia es alta (10-45%) y las complicaciones postoperatorias son comunes (Sherding, 2007).

Las otras variantes son: aproximación de los músculos mediante sutura con hilos absorbibles en puntos separados simples, utilización de hilos no absorbibles y fijación del intestino a la pared ventral del abdomen y prostectomía, transposición de músculo obturador interno con o sin sección del tendón muscular, transposición del músculo glúteo superficial, transposición de músculo obturador interno asociado a la transposición de músculo glúteo superficial, transposición del músculo semitendinoso, división anal, y obliteración del diafragma muscular pelviano mediante la adaptación de una sustancia sintética en forma de malla. La colocación de mallas se realiza sobre todo cuando la hernia recurre y/o los músculos implicados en la reparación están atrofiados (Matera y col., 1981; Hedlund, 2004; Mortari y Canevese, 2005).

Otros procedimientos quirúrgicos que pueden ser necesarios para la resolución de este trastorno son la reparación de los divertículos o las desviaciones rectales, la eliminación de los quistes prostáticos y, en gatos con megacolon la colostomía subtotal. Se recomienda la castración por sus efectos benéficos en las dolencias prostáticas, pero no es un aspecto esencial del tratamiento, especialmente si la duración del procedimiento quirúrgico es largo aumenta el riesgo de vida en un perro viejo. Se puede decir que la castración no previene el debilitamiento de la musculatura del diafragma pelviano y en los gatos no ha demostrado beneficios (Mortari y Canevese, 2005; Sherding, 2007).

Después de la cirugía debe proporcionarse una dieta muy digerible y ablandadores de las heces indefinidamente para evitar los esfuerzos y las recidivas. La inflamación perineal local es común y se resuelve aplicando compresas calientes (Sherding, 2007).

El pronóstico en la reparación de hernias a largo plazo es reservado (Sherding, 2007).

Las tasas de recidivas de las hernias perineales están asociadas a fallas en el aislamiento de las estructuras anatómicas, inadecuada colocación de suturas, elección inapropiada de materiales de sutura, tiempo de evolución de la dolencia, la afectación bilateral, contenido herniario, enfermedades asociadas, tipo de reparación quirúrgica y la habilidad del cirujano (Mortari y Canevese, 2005; Sherding, 2007). En casos de recidiva emplear métodos complementarios como la colopexia, cistopexia por fijación de los conductos deferentes, o procedimientos más complejos, incluyendo la transposición del músculo semitendinoso (Mortari y Canevese, 2005).

4.2 MATERIALES QUIRÚRGICOS.

4.2.1 Materiales sintéticos.

Los materiales sintéticos tienen la ventaja de estar disponibles rápidamente y ser hechos a la medida para las necesidades del cirujano (Bowman y col., 1998). Las características que deben cumplir son las siguientes: ser un material inerte; irreabsorbible y permanente (los absorbibles solamente son recomendados para el cierre temporal después de operaciones contaminadas); ser resistente a la infección; de rápida fijación (deben fijarse con rapidez por la fibrina del huésped para evitar la formación de seromas dependiendo de la permeabilidad de los biomateriales); y poseer incorporación completa al tejido huésped, requisito importante para lograr una reparación sólida. Otros aspectos son: no ser carcinogénicos ni alergénicos, ser capaces de resistir fuerzas mecánicas y poder ser esterilizados (Orduña y col., 2003).

Los biomateriales con poros menores de 75 micras, tienen una infiltración más histiocítica que fibrocítica. La existencia de una mayor cantidad de histiocitos en lugar de fibrocitos causa la formación de un tejido inestable alrededor de estos materiales. La textura induce una reacción fibrosa, y la infiltración por los tejidos del huésped depende de la textura de la superficie de la prótesis. En cuanto a la localización anatómica, estudios experimentales han demostrado que la mejor incorporación de un biomaterial se produce cuando éste es colocado entre dos planos musculares (Orduña y col., 2003).

4.2.1.1 Polipropileno.

El polipropileno: poly (1-metiletileno) (PP) es un polímero termoplástico, parcialmente cristalino, que se obtiene de la polimerización del propileno. Pertenece al grupo de las poliolefinas y es utilizado en una amplia variedad de aplicaciones (Arlie, 1990). Tiene gran resistencia contra diversos solventes químicos, así como contra álcalis y ácidos (Nicholson, 2006). Por su mecanismo de polimerización, el PP es un polímero de reacción en cadena ("de adición"). Por su composición química es un polímero vinílico (cadena principal formada exclusivamente por átomos de carbono) y en particular una poliolefina. Las moléculas de PP se componen de una cadena principal de átomos de carbono enlazados entre sí, de la cual cuelgan grupos metilo (CH₃-) a uno u otro lado de la misma. Cuando todos los grupos metilo están del mismo lado se habla de "polipropileno isotáctico"; cuando están alternados a uno u otro lado, de "polipropileno sindiotáctico"; y cuando no tienen un orden aparente, de "polipropileno atáctico" (Arlie, 1990).

Las propiedades del polipropileno dependen del tipo de tacticidad que presenten sus moléculas. El PP atáctico es un material completamente amorfo y tiene pocas

aplicaciones. El PP isotáctico, de alta cristalinidad, es el tipo más utilizado hoy en día. El PP sindiotáctico es muy poco cristalino, lo cual le hace ser más elástico que el PP isotáctico pero también menos resistente (Nicholson, 2006).

El polipropileno isotáctico comercial es muy similar al polietileno, excepto por las siguientes propiedades: menor densidad, temperatura de reblandecimiento más alta, gran resistencia al stress cracking, mayor tendencia a ser oxidado. Tiene un grado de cristalinidad intermedio entre el polietileno de alta y el de baja densidad (Nicholson, 2006).

Es transparente, con un índice de refracción en torno a 1,5. Una minoría puede ser usada en aplicaciones médicas o farmacéuticas (Nicholson, 2006). Posee alta elasticidad y baja permeabilidad a líquidos y gases. Tiene una alta estructura molecular la cual da una alta reducción de la temperatura, esto permite al polipropileno a ser esterilizado por procedimientos normales en el quirófano sin afectar su elasticidad (Bowman y col., 1998).

Las mallas de polipropileno se componen de fibras de monofilamentos de polipropileno tejidas. Son porosas, un poco elásticas, semirrígidas y relativamente pesadas, contienen memoria plástica y se tuercen cuando se flexionan en dos direcciones a la vez (Scctwart y col., 2000).

Es producida cuando los monofilamentos del polímero son tejidos en una muestra de tafetán. El tejido de tafetán da a la malla fuerza e impide el deshilachamiento. Desde que la malla de polipropileno es hecha de monofilamento no posee ningún poro contra fibra. A consecuencia de ello, todos sus poros son grandes (200 a 800 um.) cuando se los compara con otros tipos de mallas. Ha sido demostrado experimentalmente que los tamaños de los poros mayores a 100 um. son requeridos por el rápido crecimiento hacia adentro de los tejidos conjuntivos vascularizados. Los poros de tamaños pequeños no proveen suficiente espacio para la penetración capilar. La estructura del polipropileno impide que la bacteria sea atrapada por las fibras de la malla. Esto hace a la malla de polipropileno menos probable que otras mallas sintéticas a infectarse en presencia de bacterias. Aunque varios implantes de mallas sintéticas han sido evaluados por más de cuarenta años sobre la base de propiedades experimentales y clínicas, las mallas de polipropileno permanecen como uno de los implantes de mallas más frecuentemente usados. (Bowman y col., 1998).

4.2.1.2 Ensayos con polipropileno.

En Medicina Humana la tendencia a implantar prótesis sintéticas permanentes para reparar hernias ha activado el resurgimiento de la vía preperitoneal posterior (Scctwart y col., 2000). En 1958 Usher utilizó malla de Marlex (polipropileno), este material protésico lo empleo en condiciones experimentales y clínicas desde 1959. La implantación de la malla es útil en las hernias que han recidivado varias veces (Nyhus, 1986). Se dispone con facilidad de mallas sintéticas de prótesis no degradables y con tolerancia biológica, las cuales han reemplazado a los injertos biológicos. Las que se han comprobado que son útiles son las de Marlex, Prolene, Trelex, Surgipro, Mersilene y Gore-Tex. Las prótesis de polipropileno incitan una respuesta rápida de fibroblastos y se integran con rapidez en el cuerpo con inflamación mínima. Las permanentes nunca deben estar en contacto directo con las vísceras del abdomen porque provocan uniones y adherencias íntimas difíciles de cortar y pueden causar obstrucción y fístulas intestinales. Todos los materiales sintéticos pueden quedar secuestrados, actúan como un cuerpo extraño, agravan y

prolongan las infecciones. La malla de monofilamento toleraría mejor la infección que la de polifilamento porque las bacterias pueden establecerse dentro de ella y es difícil desalojarlas de los intersticios de las filas de polifilamento (Scttwart y col., 2000).

En animales el uso de polipropileno lo hemos encontrado en diferentes ensayos experimentales, los cuales se describirán a continuación.

Un estudio sobre la utilización de placas para osteosíntesis fabricadas en polipropileno, para colocar en forma permanente o transitoria en fracturas en pequeños animales reveló los siguientes resultados. Se intentó determinar la adecuación mecánica de este material sobre casos reales y determinar la existencia de reacciones adversas del organismo, debidas al implante. En el grupo de animales sanos no se presentaron casos de infección postoperatoria logrando el apoyo normal del miembro en un período de 15 a 21 días. Las observaciones anatomopatológicas no demostraron alteraciones en el lugar del implante. En el grupo de animales enfermos todos los animales presentaron una rápida formación de callo de predominio periosteal. Los perros con fracturas simples mostraron una rápida utilización del miembro, en algunos animales se observaron fístulas en el lugar de la fractura. La prueba biológica realizada en animales sanos y las observaciones a largo plazo sobre los animales con fracturas, parecen demostrar que este polímero no produce efectos locales sobre el hueso implantado o reacciones adversas sistémicas. Las reacciones locales observadas en algunos casos, podrían adjudicarse a la irritación producida por los implantes (placas y/o tornillos) en el tejido subcutáneo y no a factores de rechazo (Wheeler y González, 1998).

La corrección de defectos del pabellón auricular, consecuentes a operaciones de otoplastia estética obtenidos con tratamientos no quirúrgicos ha sido poco favorable. Por esta razón se optó por técnicas quirúrgicas con la utilización de malla de polipropileno. En el ensayo se emplearon 8 caninos de las razas doberman y boxer de entre 9 y 12 meses. Los resultados observados en los animales intervenidos fueron satisfactorios en 7 casos. Estos mostraron al momento de la retirada del dispositivo de sustentación posición erecta y movimiento adecuado de las orejas, no siendo vistas retracciones ni modificaciones en el espesor. Uno de los perros, de raza boxer con evolución inicial favorable volvió a presentar el defecto original pasados 15 días de retirado el dispositivo de sustentación. Estos resultados indican la utilización de malla de polipropileno como implante para la corrección de defectos de posición del pabellón auricular, debido a la falta de resistencia del cartílago consecuentes a las operaciones de otoplastia estética (Matera y col., 1989).

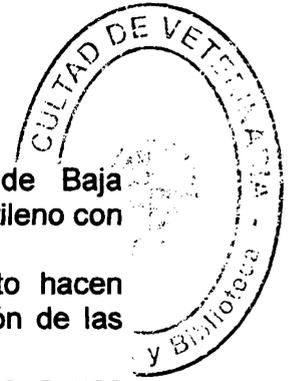
Otro estudio con 6 animales de la especie canina que padecían de hernia perineal se intervinieron quirúrgicamente para la implantación de mallas de polipropileno en forma oval y de tamaño variable con las dimensiones del orificio al cual fue fijado en el tejido muscular del diafragma pelviano. Del total de los animales utilizados en el trabajo experimental solo uno presentó, después de 10 días, aumento de volumen del lado derecho cuya ruptura espontánea de piel mostró presencia de líquido de aspecto purulento con permanencia de fístula que, después del tratamiento con tintura de yodo, desapareció pasados 15 días. No se observó reacciones tisulares macroscópicas en cualquiera de los casos operados, la malla se mostró incorporada a la pared, permitiendo la perfecta reconstitución del diafragma muscular pelviano (Matera y col., 1981).

Un estudio retrospectivo en perros y gatos evaluó las complicaciones asociadas con la implantación de mallas de polipropileno en grandes defectos en las paredes del cuerpo, como resultado de la extirpación de tumores, traumas severos o hernias. Tejidos autógenos son preferidos para cerrar estos defectos, sin embargo implantes sintéticos como las mallas de polipropileno (preferida por muchos cirujanos por su fuerza y facilidad de manejo) pueden ser utilizadas ya que éstas son bien toleradas por el tejido circundante. La hipótesis de los autores fue que la malla de polipropileno fuera eficaz en la reparación de tejidos deficientes sin secuelas a largo plazo. Para el estudio se utilizaron 16 perros y 3 gatos. La malla fue suturada al tejido adyacente usando polipropileno en 16 casos, polidioxanona en 4, y polietileno en uno. Solamente un caso desarrolló una infección postoperatoria la cual se resolvió con drenaje torácico y antibióticos. No está claro si la infección se debió a la malla o fue derivada de una contaminación quirúrgica. El perro ha sido seguido por 2 años después de la operación y no ha tenido más problemas asociados con su implante. La baja incidencia de la infección podría ser debida al uso de antibióticos profilácticos. Sin embargo, la infección relacionada al implante no se desarrolló en los 4 casos que no recibieron antibióticos profilácticamente. Varios de los casos habían experimentado procedimientos quirúrgicos previos en el lugar de la implantación de la malla, un factor que podría predisponer a complicaciones en la herida tales como la infección. Un caso (con una hernia incisional crónica abdominal) desarrolló infección por pseudomonas sin dar problemas a largo plazo. Complicaciones postoperatorias inmediatas ocurrieron en el 50% de los casos. Las mallas de polipropileno parecen ser un implante satisfactorio para perros y gatos con defectos grandes en las paredes corporales. Los seromas fueron complicaciones postoperatorias comunes inmediatas, no teniendo efecto a largo plazo. La ubicación de drenajes Penrose en los sitios de la cirugía en forma intraoperatoria impidieron la aparición de esta complicación. Ninguno de los implantes tuvo que ser quitado debido a una infección aguda o crónica (Bowman y col., 1998).

4.2.1.3 Polietileno.

El polietileno (PE) es químicamente el polímero más simple. Se representa con su unidad repetitiva $(\text{CH}_2\text{-CH}_2)_n$. Por su alta producción mundial es también el más barato, siendo uno de los plásticos más comunes. Es químicamente inerte, se obtiene de la polimerización del etileno, del que deriva su nombre. Este polímero puede ser producido por diferentes reacciones de polimerización, cada una de éstas produce un tipo diferente de polietileno. Es un polímero de cadena lineal no ramificada (Arlie, 1990). Las propiedades físicas y el peso molecular del mismo están definidos por el proceso de polimerización que se ve afectado por la temperatura y la presión, y también por sustancias químicas usadas como catalizadores de la misma (Naudie y col., 2007).

Clasificación y propiedades físicas: la abreviatura de polietileno más comúnmente utilizada es PE. Los polietilenos pueden clasificarse en: PEBD (Polietileno de Baja Densidad) no tóxico, flexible, liviano, transparente, inerte (al contenido), impermeable, poca estabilidad dimensional, fácil procesamiento y bajo costo; PEAD (Polietileno de Alta Densidad) densidad igual o menor a 0.941 g/cm^3 , bajo nivel de ramificaciones por lo cual su densidad es alta y las fuerzas intermoleculares también, resistente a las bajas temperaturas, alta resistencia a la tensión, compresión y tracción, baja densidad en comparación con metales u otros materiales, impermeable, inerte (al contenido), baja reactividad, no tóxico, poca



estabilidad dimensional y deslizamiento; PELBD (Polietileno Lineal de Baja Densidad); UHWPE (Polietileno de Ultra Alto Peso Molecular); y PEX (Polietileno con Formación de Red) (Nicholson, 2006).

Los términos baja densidad, alta densidad y peso molecular ultra alto hacen referencia al peso molecular, a la longitud de la cadena y a la colocación de las cadenas de polímeros (Gordon y col., 2006).

El polietileno puede formar una red tridimensional cuando es sometido a una reacción covalente de "vulcanizado". El resultado es un polímero con efecto de memoria. El efecto de memoria en el polietileno y otros polímeros consiste en que el material posee una forma estable o permanente y a cierta temperatura, conocida como temperatura de obturación se puede obtener una forma temporal, la cual puede ser modificada simplemente al calentar el polímero a su temperatura de obturación (Nicholson, 2006).

El método de esterilización del polietileno también afecta a sus propiedades mecánicas y al posterior rendimiento del mismo. Hoy en día se realiza con gas de óxido de etileno o mediante radiación gamma en un entorno libre de oxígeno. Para crear una estructura tridimensional de polietileno más resistente, los fabricantes de implantes también han comenzado a usar altas dosis de haces de electrones o radiación gamma variable. Este proceso es denominado entrecruzamiento o reticulación (Naudie y col., 2007). Las pruebas de laboratorio han permitido demostrar que el polietileno reticulado es mucho más resistente que el convencional en diversas situaciones (Gordon y col., 2006).

4.2.1.4 Ensayo con polietileno

El trabajo de Rossa y col. (2005) tuvo como objetivo verificar las reacciones tisulares luego de la implantación de fragmentos cuadrangulares de polietileno poroso en la región subcutánea del dorso de ratas. La aplicación sería para uso humano en procesos de reparación de lesiones provocadas por traumatismos, deformidades causadas por tumores, alteraciones o malformaciones congénitas. Para este ensayo fueron utilizadas 27 ratas, las cuales fueron sometidas a anestesia general por vía intramuscular. Fue incluido un fragmento de polietileno poroso en cada una de las ratas. Fueron sacrificados 3 animales a los días: 7, 14, 30, 60, 90, 120, 150, 180, y 210 del postoperatorio. Las áreas conteniendo los implantes fueron extraídas, fijadas en formol al 10%, deshidratadas en alcohol e incluidas en parafina. Se realizaron cortes de 8 μ m. de espesor y fueron coloreados con hematoxilina y eosina. Las evaluaciones histológicas de las respuestas del tejido conjuntivo en contacto con el polietileno poroso fueron realizadas en forma descriptiva, cuantitativa y subjetiva, tomándose en consideración el infiltrado inflamatorio y fenómenos correlativos, fenómenos reparatorios y las características del material utilizado. En el periodo de 7 días se notó la presencia de una cavidad en la región donde se encontraba la pieza de polietileno poroso, sus paredes presentaban proyecciones de tejido de granulación invadiendo el mismo su interior. En el interior de la cavidad se observó la presencia de algunos fragmentos de tejido conjuntivo fibroso, con intenso infiltrado de células inflamatorias mononucleares. Se constató también la presencia de células gigantes multinucleares inflamatorias. Al período de 14 días se observó la presencia de macrófagos cargados de partículas y de células gigantes multinucleares inflamatorias, localizadas en la superficie del tejido conjuntivo, en contacto directo con el polietileno poroso implantado. En algunas áreas, se destacaba la presencia de una estrecha fascia de tejido de granulación, rodeando las cavidades. Al período

de 30 días la intensidad de la inflamación era moderada, limitándose a una estrecha fascia próxima a la cavidad. Las células gigantes multinucleares inflamatorias, cuando estaban presentes, se localizaban en la periferia, yuxtapuestas a la cavidad. A los 60 días, se notó un mayor número de cavidades satélites con tamaños variados, esas cavidades eran contorneadas por una fascia de tejido reaccional bien celularizado, con discreto fibrosamiento y circundada por un tejido fibroso con escaso infiltrado inflamatorio (con células gigantes multinucleares y macrófagos). A los 90 días se verificó la presencia de mayor cantidad de tejido conjuntivo fibroso disperso en la cavidad. Algunas células gigantes multinucleares inflamatorias en el margen de la cavidad, algunos macrófagos y la presencia de células adiposas eran también evidenciadas. A los 120 días el infiltrado inflamatorio mononuclear con predominio de linfocitos próximos a los límites de la cavidad era bien evidente. A los 150 días se notó una mayor cantidad de fragmentos de tejido conjuntivo fibroso con forma cuadrangular. El tejido conjuntivo que circundaba las cavidades satélites se mostró con moderado infiltrado inflamatorio. A los 180 días los aspectos observados en las dos fases anteriores fueron acentuados. En el período final de 210 días se notó la presencia de pequeñas cavidades formadas a partir de la invasión de tejido conjuntivo hacia el interior del polietileno poroso. La intensidad de la inflamación era discreta y se localizaba en mayor cantidad en la porción central del implante. Durante el período evaluado no se evidenciaron infecciones, necrosis tisular, calcificaciones distróficas y/o secuestros de polietileno poroso, caracterizando de ésta forma su baja toxicidad. En todo el período observado se notó la presencia de células gigantes multinucleares inflamatorias exclusivamente en la región periférica. Células polimorfonucleares fueron apenas observadas en los dos períodos iniciales, probablemente a consecuencia a la agresión quirúrgica. El polietileno poroso se mantuvo íntegro en todos los períodos de observación, no presentando señal de reabsorción. Fue bien tolerado por los tejidos hospederos, a pesar de presentar algún discreto infiltrado inflamatorio crónico en el último período de observación (Rossa y col., 2005).

4.3 EPITELIO Y TEJIDO CONJUNTIVO.

4.3.1 Piel.

La piel es uno de los mayores órganos de un animal y cuenta con diversas funciones. Está constituida por dos capas principales, el epitelio superficial llamado epidermis y una capa de tejido conectivo subyacente, la dermis o corion. Subyacente a la dermis hay una capa de tejido conectivo con abundantes células adiposas denominada hipodermis. La interfaz entre la epidermis y la dermis es muy irregular (Monteiro-Riviere y col., 1994; Bloom y Fawcett, 1995).

4.3.1.1 Epidermis.

La epidermis deriva del ectodermo y la dermis del mesodermo. La epidermis consta de cinco estratos. El estrato basal está formado por una sola capa de células sostenida por una basal típica. Sus células son cuboideas o columnares bajas, su núcleo es grande y el citoplasma es basófilo. Se le llamaba estrato germinativo porque la proliferación de sus células es responsable de la renovación continua del epitelio. El estrato espinoso tiene el mismo conjunto de orgánulos, pero su basofilia es menos intensa que la del anterior. El estrato granuloso está formado por tres a

cinco capas de células algo más aplanadas que las del estrato espinoso. Su principal rasgo es la presencia de cuerpos de gran tamaño y forma irregular. El estrato lúcido es una capa de células delgadas localizadas entre el estrato granuloso y córneo. El estrato córneo consta de muchas capas de células muy planas altamente queratinizadas que no tiene núcleos ni orgánulos citoplasmáticos (Bloom y Fawcett, 1995).

La mayoría de los órganos epiteliales del cuerpo derivan del ectodermo y endodermo. El epitelio es un tejido constituido por células contiguas en aposición (Bloom y Fawcett, 1995). Constituye la parte interna del organismo además de cubrir la superficie corporal, las células epiteliales crecen y proliferan hacia el tejido subyacente para formar las glándulas y los folículos pilosos (Stinson y col., 1994). En la superficie basal de todas las células epiteliales existe una fina lámina amorfa de matriz extracelular denominada lámina basal constituida por una trama de filamentos finos. Se le llama así debido a que esta no es una bicapa lipídica semejante a las demás membranas celulares. No es visible en cortes de rutina al microscopio óptico, mientras que en el microscopio electrónico vemos dos capas: la lámina lúcida (en contacto con la epidermis) y la lámina densa (en contacto con el conjuntivo) de grosor similar. Los componentes químicos principales de la lámina basal son: colágeno tipo IV, laminina, y proteoglicanos (Stinson y col., 1994; Bloom y Fawcett, 1995). En la mayoría de los epitelios una lámina reticular, formada por fibras reticulares, conecta la lámina basal al tejido conjuntivo subepitelial, proporcionando adhesión al epitelio. El conjunto de la lámina basal y la lámina reticular recibe el nombre de membrana basal (Stinson y col., 1994). Las células de los epitelios están estructural y funcionalmente polarizadas para llevar a cabo las funciones de secreción o absorción y para regular el tránsito de iones y solutos. Los diferentes tipos de epitelio se clasifican según el número de capas celulares, la forma de las células, y las especializaciones que presentan en su superficie libre (Bloom y Fawcett, 1995). Las denominaciones que reciben los diversos tipos de epitelios estratificados se basan en la morfología de las células superficiales, sin tener en cuenta la forma de las células de las capas más profundas (Stinson y col., 1994).

Epitelio plano simple: consta de una sola capa de células delgadas, aplanadas, en forma de escamas. Las células tienen una morfología irregular, con bordes ligeramente aserrados. Se colocan una junto a otra para formar una lámina continua. Poseen un núcleo esférico u ovalado cerca del centro de la célula. Tapiza vasos sanguíneos (endotelio) y linfáticos (Stinson y col., 1994; Bloom y Fawcett, 1995).

Epitelio cúbico simple: es una capa única de células cuya altura y ancho es aproximadamente el mismo. Tapiza conductos de glándulas (Stinson y col., 1994; Bloom y Fawcett, 1995).

Epitelio cilíndrico simple: formado por células altas, estrechas, de altura considerablemente mayor que el ancho; su núcleo es ovalado y se localiza cerca de la base de cada célula (Stinson y col., 1994).

Epitelio cilíndrico pseudoestratificado: formado por una sola capa de células, pero debido a que son irregulares en forma y tamaño, sus núcleos están a diferentes niveles. En este tipo de epitelio todas las células descansan sobre la membrana basal, pero no todas alcanzan la superficie (Stinson y col., 1994).

Epitelio plano estratificado: consta de varias capas de células; solo las superficiales tienen forma aplanada. Se distinguen tres a cinco capas diferentes, la capa más profunda de células junto a la lámina basal es el estrato basal (capa única de células

cúbicas o cilíndricas). La siguiente capa es el estrato espinoso, compuesto por un número variable de capas de células poliédricas. Debido a que la mayoría de las mitosis aparecen en el estrato basal, a esta capa se le conoce también como estrato germinativo. Cuando las células del estrato espinoso se desplazan hacia la superficie se vuelven más aplanadas y acumulan gránulos de queratohialina en su citoplasma, esta capa se llama estrato granuloso. El estrato lúcido aparece solamente en regiones de piel desprovistas de pelo, tiene un aspecto translúcido. El estrato córneo está formado por células queratinizadas muertas (Stinson y col., 1994). Este epitelio corresponde a la epidermis de la piel, en ella las células presentan queratinización y mueren. La capa de células muertas proporciona un cierto grado de protección a las células viables situadas más profundamente en el epitelio (Bloom y Fawcett, 1995).

Epitelio cúbico estratificado: consta de dos o más capas de células, con una capa superficial de células cúbicas (Stinson y col., 1994).

Epitelio cilíndrico estratificado: está formado por varias capas de células, la capa superficial de células, altas y cilíndricas, no llega hasta la membrana basal. Las capas profundas son de células poliédricas más pequeñas, que no alcanzan la superficie (Stinson y col., 1994).

4.3.1.2 Dermis.

La dermis es una capa resistente y curtida de tejido conectivo que constituye la mayor parte del grosor de la piel. Su región cercana a la epidermis se caracteriza por crestas dérmicas paralelas separadas por surcos primarios profundos (Bloom y Fawcett, 1995). Las proyecciones de la dermis se denominan papilas dérmicas y las depresiones de la epidermis crestas interpapilares. En la dermis se identifican dos capas: papilar y reticular. La capa papilar superficial (la más delgada) está formada por fibroblastos y otras células del tejido conectivo ampliamente dispersas entre fibras colágenas finas, principalmente colágeno tipo III. Tiene también una red laxa de fibras elásticas y muchos capilares. Se extiende hasta el contorno del estrato basal. La capa reticular, más profunda y más gruesa está constituida por haces toscos y muy empaquetados de fibras más gruesas, de colágeno tipo I. Alternando con los haces hay una red de fibras elásticas que son especialmente abundantes alrededor de las glándulas sebáceas y sudoríparas, y que se extienden en sentido descendente desde la epidermis a la dermis. Los tipos celulares predominantes de la dermis son: fibroblastos, macrófagos, linfocitos y mastocitos. Pueden encontrarse además células adiposas, células plasmáticas, cromatóforos y leucocitos extravasculares. Vasos sanguíneos, linfáticos y nervios atraviesan la dermis. La hipodermis sujeta la dermis al músculo o hueso subyacente. Se trata de un tejido conectivo más laxo en el que los haces de fibras colágenas más finas están orientados principalmente paralelos a la superficie de la piel y junto con las fibras elásticas permiten su flexibilidad. También existe tejido adiposo en esta capa (Monteiro-Riviere y col., 1994; Bloom y Fawcett, 1995).

Los pelos se desarrollan en el espesor de la dermis, a partir de invaginaciones epidérmicas. Se forman a partir de las células que revisten esas invaginaciones profundas de la epidermis, llamados folículos pilosos. Un músculo erector de los pelos se inserta en la lámina de tejido conjuntivo del folículo piloso en los folículos primarios, por encima de su inserción se encuentran una o más glándulas sebáceas, éstas descargan su secreción en el canal folicular. Un folículo piloso activo tiene una expansión terminal llamada bulbo piloso (Bloom y Fawcett, 1995).



Las glándulas sebáceas se encuentran en la dermis de todo el tegumento excepto en lugares que carecen de pelo. Pueden ser simples, ramificadas, o alveolares compuestas. Tienen una estructura lobulillar formada por acinos alargados que se abren en un conducto corto (Monteiro-Riviere y col., 1994; Bloom y Fawcett, 1995). Liberan sebo, secreción oleosa formada por una mezcla de lípidos que actúa como agente antibacteriano y en los mamíferos con pelos como agente protector de la humedad (Bloom y Fawcett, 1995).

Las glándulas sudoríparas están ampliamente distribuidas por todo el tegumento. Son glándulas tubulares enrolladas con sus porciones secretoras habitualmente localizadas en zonas profundas de la dermis o hipodermis, el conducto excretor sigue un curso recto hacia la parte superior de la dermis, atraviesa la epidermis del folículo piloso inmediatamente antes de que se abra en la superficie de la piel. Estas glándulas se dividen en dos tipos apocrino y ecrino (Monteiro-Riviere y col., 1994; Bloom y Fawcett, 1995).

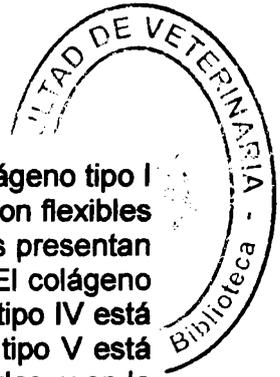
4.3.2 Tejido conjuntivo.

Se origina del mesénquima embrionario. Sirve como medio a través del cual discurren los vasos sanguíneos. Las células de este tejido están ampliamente diseminadas en una abundante matriz extracelular formada por componentes fibrosos y amorfos. Hay dos tipos de tejido conjuntivo: laxo y denso, se diferencian porque el primero tiene fibras entrelazadas de forma suelta mientras que el segundo las posee en abundancia y estrechamente entretejidas (Bloom y Fawcett, 1995).

El tejido conjuntivo laxo es el más ampliamente distribuido en el animal adulto. Está presente alrededor de los vasos sanguíneos y nervios y entre los haces musculares y las capas de musculatura lisa de los órganos huecos. Se encuentra debajo de muchos epitelios en los que ofrece soporte y suministro vascular. Realiza funciones mecánicas como soporte y amortiguación, participa en la reparación tisular y en las actividades defensivas (inflamación) (Van Sickle y col., 1994).

En el tejido conjuntivo denso las fibras son más abundantes que las células y la sustancia fundamental amorfa. Se clasifica en tejido conjuntivo denso irregular, con una orientación al azar de los haces de fibras y tejido conjuntivo denso regular en el cual las fibras están orientadas. El tejido conjuntivo denso irregular tiene esencialmente la misma población celular que el tejido conjuntivo laxo, predominan los fibroцитos. Las fibras de colágeno predominan aquí, organizadas en haces que se entrecruzan unos con otros. El tejido conjuntivo denso regular existe en dos variedades tendones y ligamentos colágenos; y ligamentos elásticos (Van Sickle y col., 1994).

Las fibras y células del tejido conjuntivo están incluidas en una sustancia fundamental amorfa la cual está compuesta principalmente por diversos proteoglucanos, estos en concentraciones bajas no se detectan en cortes teñidos con hematoxilina y eosina (H-E) (Van Sickle y col., 1994). Las fibras de colágeno están presentes en todos los tipos de tejido conjuntivo laxo normal y maduro, orientadas al azar. En los cortes histológicos se tiñen de color rosa con la eosina. No presentan ramificaciones (Van Sickle y col., 1994; Bloom y Fawcett, 1995). El colágeno es una familia de proteínas muy relacionadas que comparten ciertas características de organización molecular cuyas cadenas α difieren en la secuencia y composición de aminoácidos (Bloom y Fawcett, 1995). El número, grosor, longitud y orientación tridimensional de las fibras de colágeno están sometidas a gran variación y dependen de las propiedades funcionales del tipo de tejido conjuntivo. Se han



identificado numerosos tipos de colágeno (Van Sickle y col., 1994). El colágeno tipo I es el más ampliamente distribuido y está presente en la piel. Sus fibras son flexibles y pueden adaptarse a los movimientos y cambios de tamaño. Sus fibrillas presentan estriación transversal (Van Sickle y col., 1994; Bloom y Fawcett, 1995). El colágeno tipo III es abundante en el tejido conjuntivo laxo y vasos sanguíneos. El tipo IV está restringido casi por completo a las láminas basales de los epitelios. El tipo V está muy distribuido, se puede observar en las fibras musculares lisas y estriadas, y en la lámina basal de los epitelios. El tipo VI se encuentra en pequeñas cantidades en la mayor parte de las estructuras y tejidos en los que están los colágenos tipo I y III. El tipo VII está presente en la lámina basal de muchos epitelios, aunque es más abundante en la unión dermo-epidérmica de la piel (Bloom y Fawcett, 1995).

Entre las fibras colágenas más abundantes se pueden distinguir unas fibras muy delgadas denominadas fibras elásticas, de diámetro pequeño uniforme, que tienden a ramificarse y reunirse formando una trama laxa. Son difíciles de distinguir en las preparaciones teñidas con hematoxilina y eosina (Bloom y Fawcett, 1995). El principal componente de las fibras elásticas es la elastina (sintetizada por los fibroblastos y las células musculares lisas), el componente secundario son las microfibrillas. Las fibras reticulares no son visibles en las preparaciones histológicas de rutina. Son fibrillas individuales de colágeno tipo II, revestidas con proteoglucanos y glicoproteínas. Estas fibras forman una trama flexible y delicada alrededor de los capilares, fibras musculares, nervios y células adiposas. Son parte integral de las membranas basales (Van Sickle y col., 1994).

El colágeno y la elastina no son los únicos componentes fibrilares del tejido conjuntivo, existe otra clase de microfibrillas: la fibrilina. Suelen estar muy asociadas a las fibras elásticas y a la lámina basal de los epitelios (Bloom y Fawcett, 1995).

4.3.2.1 Células del tejido conjuntivo.

Las células del tejido conjuntivo son de dos tipos: fijas (fibroblastos, células adiposas y células mesenquimales) y libres (eosinófilos, monocitos, linfocitos, macrófagos, células plasmáticas que se diferencian a partir de los linfocitos y células cebadas). La presencia de los diferentes tipos celulares depende fundamentalmente del estado funcional de los tejidos (Van Sickle y col., 1994; Bloom y Fawcett, 1995).

Los fibroblastos son las células fijas más comunes del tejido conjuntivo laxo, elaboran los componentes extracelulares del tejido conjuntivo en desarrollo. Se disponen a lo largo de haces de fibras colágenas, y en los cortes histológicos aparecen como células fusiformes de extremos afilados, su núcleo condensado está rodeado por escasa cantidad de citoplasma pálido. Esto es característico de una célula metabólicamente inactiva. En el tejido conjuntivo normal no se suelen observar fibroblastos en fase de división, pero en respuestas a lesiones proliferan y aumentan su actividad sintética de componentes de la matriz. Los fibroblastos más jóvenes, más activos metabólicamente, se hallan en los organismos en desarrollo o en el tejido conjuntivo alterado, contienen un núcleo más grande y pálido, nucléolo prominente rodeado por citoplasma basófilo más abundante que se continúa en largas prolongaciones que contactan las células adyacentes y fibras (Van Sickle y col., 1994; Bloom y Fawcett, 1995).

Las células adiposas o adipocitos realizan la síntesis y almacenamiento de lípidos. Acumulan tales cantidades de lípidos que su núcleo se aplana y desplaza hasta un extremo del citoplasma quedando reducido a una fina línea que rodea a una gran gota única de lípido. Los adipocitos maduros son células esféricas o poliédricas.

Pueden aparecer aisladamente, aunque se suelen observar en grupo de tamaño variable y concentrándose, siguiendo el curso de los vasos sanguíneos. Cuando superan en número a todos los otros tipos de células, el tejido se conoce como tejido adiposo (Van Sickle y col., 1994; Bloom y Fawcett, 1995).

Las células mesenquimales son células pluripotenciales e indiferenciadas que se encuentran usualmente adyacentes a los vasos sanguíneos. Son más pequeñas y tienen menos orgánulos citoplasmáticos que los fibroblastos. Su núcleo es la característica más destacada, su citoplasma es escaso. Sirven como reservorio de células que se pueden diferenciar en otros tipos de células conjuntivas (Van Sickle y col., 1994).

Los macrófagos mantienen los tejidos normales porque ingieren las células muertas y sus restos así como otras partículas, las cuales degradan mediante enzimas lisosomales. Son la primera línea de defensa frente a la infección e indispensables en las defensas inmunitarias del organismo. En el tejido conjuntivo no reactivo normalmente son fijos, se convierten en móviles en respuesta a la estimulación. Se originan de los monocitos de la médula ósea. Los macrófagos presentes normalmente se llaman residentes, los movilizados hacia una zona en respuesta a un estímulo provocados, y los que aumentan sus capacidades de fagocitosis y procesamiento de antígeno en respuesta a un estímulo local activados (Van Sickle y col., 1994; Bloom y Fawcett, 1995). Los macrófagos residentes son fusiformes o estrellados, están ampliamente distribuidos entre los haces de fibras de colágeno del conjuntivo, aunque suelen ser más abundantes en la vecindad de los vasos sanguíneos. Se pueden diferenciar de los fibroblastos por su núcleo más pequeño y cromático, y por su citoplasma más heterogéneo en el que se observan vacuolas y lisosomas (Bloom y Fawcett, 1995). Cuando los macrófagos rodean cuerpos extraños que son demasiado grandes para ser fagocitados pueden presentar fusión y formar grandes masas celulares multinucleadas llamadas células gigantes de cuerpo extraño. Los macrófagos provocados y activados presentan formas muy variadas, poseen pseudópodos, numerosas microvellosidades cortas y finos pliegues ondulantes. Los provocados son células grandes, ovoides o esféricas, con citoplasma granuloso. Contienen numerosos lisosomas y fagosomas o fagolisosomas (Van Sickle y col., 1994; Bloom y Fawcett, 1995). Diversos estímulos son responsables de que los macrófagos se muevan quimiotácticamente a aquellos lugares del organismo donde son necesarios, se acumulan y se hacen fagocíticos (Van Sickle y col., 1994).

Las células cebadas o mastocitos son las células libres más grandes del tejido conjuntivo. Son polimórficas y se pueden identificar fácilmente por la presencia de numerosos gránulos basófilos en su citoplasma, que pueden llegar incluso a oscurecer el núcleo. No pueden identificarse específicamente en los cortes teñidos con hematoxilina y eosina (H-E) (Van Sickle y col., 1994; Bloom y Fawcett, 1995).

Las células plasmáticas o plasmocitos son esféricas, ovoides o piriformes con núcleo esférico excéntrico. La cromatina con frecuencia se encuentra en forma de agrupaciones localizadas periféricamente o en cordones convergentes concéntricos (rueda de carro). El citoplasma es intensamente basófilo. No son abundantes en el tejido conjuntivo de la piel. Se desarrollan de linfocitos B que emigran desde la sangre, producen anticuerpos circulantes o humorales (Van Sickle y col., 1994; Bloom y Fawcett, 1995).

Los linfocitos son las células principales del sistema inmunitario; están presentes en pequeñas cantidades en el tejido conjuntivo de todo el cuerpo. Son de dos tipos: T y

B, morfológicamente idénticos pero con funciones diferentes (Bloom y Fawcett, 1995). Se clasifican en pequeños (de 6 a 9 um.) y grandes (de 9 a 15 um.). Los pequeños tienen un núcleo heterocromático redondo, denso o ligeramente dentado, y el citoplasma azul pálido y escaso. El núcleo de los grandes contiene unos pocos nucléolos y presenta una ligera invaginación. El citoplasma es más abundante y se tiñe homogéneamente de color azul (Deldar, 1994).

Los neutrófilos no suelen estar presentes en el tejido conjuntivo normal, pero pueden ser muy numerosos en las zonas de inflamación. Tienen de 12 a 15 um. de diámetro y contienen núcleos segmentados heterocromáticos con 3 a 5 lóbulos unidos. El citoplasma es azul grisáceo pálido y contiene gránulos de pequeño tamaño, pálidos o rosáceos (Deldar, 1994; Bloom y Fawcett, 1995).

Los eosinófilos son componentes normales del tejido conjuntivo, no son tan eficaces como los neutrófilos en la destrucción de las bacterias. Miden 10 a 15 um. de diámetro con núcleo polimórfico menos condensado y segmentado que el de los neutrófilos. El citoplasma contiene gránulos eosinófilos (Deldar, 1994; Bloom y Fawcett, 1995).

Los basófilos miden de 10 a 15 um. de diámetro y muestran un núcleo heterocromático segmentado o de forma irregular. La segmentación nuclear es menos evidente. Los gránulos citoplasmáticos son prominentes, se tiñen de color violeta rojizo. Tienen cierta semejanza morfológica con las células cebadas pero son más pequeños de forma redondeada regular, núcleo segmentado y menos gránulos, uniformemente distribuidos (Deldar, 1994).

4.4 INFLAMACIÓN

4.4.1 Generalidades

La inflamación es el mecanismo de reacción compleja del tejido vascularizado frente a una injuria o agresión local. Los agentes lesivos pueden ser biológicos (microorganismos patógenos que actúan por medio de sus toxinas, su metabolismo o directamente; tejidos necróticos y todos los tipos de reacción inmunológica) y no biológicos o inanimados (agentes físicos y/o químicos). La acción local de una noxa desencadena una modificación tisular, extravasación del plasma y de las células de la red vascular terminal (Gázquez Ortiz, 1991; Gutiérrez, 2002; Kumar y col., 2006).

La respuesta inflamatoria ocurre sólo en tejidos conectivos vascularizados. Sirve para destruir, diluir o denudar al agente agresor y pone en acción una serie de acontecimientos que tratan de curar y reconstruir el tejido dañado. El mayor problema que surge de la inflamación es que la defensa se dirija tanto hacia agentes dañinos como a no dañinos, de manera que provoque lesión en tejidos u órganos sanos (Kumar y col., 2006).

Los signos de la inflamación son: calor, dolor, rubor, tumor y pérdida de la función. El rubor está causado por la hiperemia local, el tumor por la exudación y el aumento de células, el calor por el aumento del metabolismo local, y el dolor y la pérdida de la función por la acción de presión y excitaciones físico-químicas que se ejerce sobre los nervios periféricos (Gázquez Ortiz, 1991).

Etiología de la inflamación: el proceso inflamatorio puede tener origen físico (radiaciones, frío, calor), químico (venenos, toxinas), biológico (bacterias, virus, parásitos, hongos), traumatismos o cuerpos extraños, alteraciones vasculares (isquemia), y/o alteraciones inmunitarias (hipersensibilidad). Estas causas no

inducen directamente el proceso inflamatorio, sino que provocan un daño tisular, el cual activa una serie de mediadores químicos que desencadenan mecanismos físicos, bioquímicos y biológicos, que conjuntamente integran el fenómeno inflamatorio (Gázquez Ortiz, 1991).

La respuesta inflamatoria consta de dos componentes principales: una reacción vascular y una reacción celular. Muchos tejidos y células están implicados en estas reacciones, incluyendo el líquido y las proteínas del plasma, las células circulantes, los vasos sanguíneos y los elementos celulares y extracelulares del tejido conectivo. (Kumar y col., 2006). Las células circulantes que tienen importancia en la inflamación son los neutrófilos, monocitos, eosinófilos, linfocitos, basófilos y plaquetas. Las células del tejido conjuntivo son las células cebadas que están en íntimo contacto con los vasos sanguíneos, los fibroblastos del tejido conjuntivo, y los ocasionales linfocitos y macrófagos del mismo (Gutiérrez, 2002).

La inflamación se divide en aguda y crónica. La aguda tiene un comienzo rápido y una duración relativamente corta, de minutos hasta 48 horas. Sus principales características son la exudación de líquido y de proteínas plasmáticas (edema) y la migración de leucocitos, predominantemente neutrófilos. La inflamación crónica es menos uniforme y de duración más larga. Histológicamente se asocia con la presencia de linfocitos y macrófagos, proliferación de vasos sanguíneos, fibrosis y necrosis tisular. La inflamación se termina cuando el agente agresor se elimina y los mediadores químicos segregados se fragmentan o disipan (Gutiérrez, 2002; Kumar y col., 2006).

4.4.2 Inflamación aguda.

La inflamación aguda es una respuesta relativamente corta ante un agente agresor, a consecuencia se liberan mediadores de defensa del huésped, leucocitos (en su mayoría neutrófilos), exudado de líquido y proteínas plasmáticas (edema) en el sitio de la lesión (Gutiérrez, 2002; Kumar y col., 2006).

Este tipo de inflamación tiene tres componentes mayores: alteraciones en el calibre vascular que dan lugar a un aumento del flujo sanguíneo; cambios estructurales en la microvasculatura que permiten que las proteínas plasmáticas y los leucocitos abandonen la circulación; y migración de los leucocitos desde la microcirculación, su acumulación en el foco de la lesión y su activación para eliminar el agente ofensor (Kumar y col., 2006).

Los cambios vasculares empiezan pronto tras la lesión y ocurren con el siguiente orden. La noxa provoca simultáneamente daño celular y estimulación de los nervios perivasculares, lo que induce una vasoconstricción rápida y pasajera de las arteriolas; esto provoca cambios en el calibre, en el flujo y en la permeabilidad vascular. Después de la vasoconstricción primaria hay una relajación de la musculatura de la pared vascular, que origina una vasodilatación en la zona dañada que implica primariamente a las arteriolas y después da lugar a la abertura de nuevos lechos capilares y descenso de la presión plasmática. Así es como se incrementa el flujo vascular que influye directamente en la producción del calor y del enrojecimiento o rubor. La vasodilatación está regulada por la histamina, secretada por las células cebadas al ser estimuladas por la noxa. La vasodilatación también conduce a la disminución de la velocidad de la circulación (estasis sanguínea), esto provoca la concentración de los hematíes en los pequeños vasos y el aumento de la viscosidad de la sangre y origina trastornos del flujo y de la permeabilidad vascular, facilitando la emigración de las células hacia el espacio extravascular. La presencia

de exudado rico en proteínas se debe al daño directo del endotelio, producido cuando hay soluciones de continuidad lo suficientemente amplias como para dejar paso a proteínas de alto peso molecular, en especial el fibrinógeno que origina la fibrina extracelular la cual sirve como soporte para la emigración de los leucocitos, fundamentalmente neutrófilos (Gázquez Ortiz, 1991; Gutiérrez, 2002; Kumar y col., 2006).

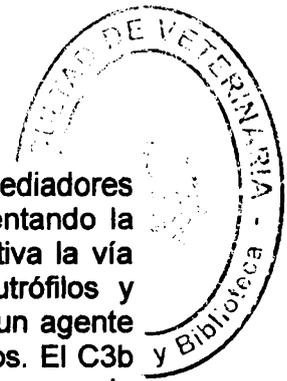
La pérdida de líquido de los vasos con permeabilidad aumentada ocurre en distintas fases. Una respuesta transitoria inmediata que dura 30 minutos o menos, alcanzando un pico a los cinco o diez minutos, mediada principalmente por la acción de la histamina y los leucotrienos del endotelio, y por agresiones leves. Actúan básicamente en vénulas de tamaño medio y pequeño y no afectan a capilares debido a que los primeros poseen mayor cantidad de receptores histamínicos. Una respuesta retardada (inmediata y mantenida) que empieza aproximadamente 2 horas más tarde y dura 8 horas, se dan en las lesiones graves cuando hay daño de las células endoteliales y se afectan todos los niveles de la microcirculación, está mediada por quininas, productos del complemento y otros factores. Y, una respuesta tardía y prolongada que es más observable tras la lesión endotelial directa, es una forma de reacción sin explicación aparente ya que comienza después de un tiempo que pueden ser horas o días y afecta vénulas y capilares. En la mayoría de las reacciones inflamatorias estas tres respuestas se solapan (Gutiérrez, 2002; Kumar y col., 2006).

Los mediadores químicos pueden estar presentes en el plasma y deben ser activados para ejercer su función. Dicha activación está desencadenada por productos microbianos o por proteínas del huésped, tales como las proteínas del complemento, quinina y sistema de coagulación, que a su vez son activadas por microbios y tejidos dañados. Pueden estar en las células donde permanecen almacenados siendo secretados o sintetizados de nuevo en respuesta a un estímulo. Estas células son principalmente plaquetas, polimorfonucleares, monocitos, macrófagos y mastocitos. Una vez liberados y activados tienen muy poca vida media debido a su efecto tóxico. La mayoría de los mediadores lleva a cabo su actividad biológica por la unión inicial con receptores específicos sobre las células diana. Otros tienen actividad enzimática directa o median en el daño oxidativo. Un mediador puede estimular la liberación de otros mediadores por las mismas células diana (Kumar y col., 2006).

Algunos de los mediadores químicos más importantes de la inflamación aguda son:

1) Aminas vasoactivas: histamina y serotonina. La histamina (β -imidazolil-etilamina) está ampliamente distribuida en los tejidos, siendo la fuente más rica los mastocitos, basófilos y plaquetas de la sangre. Se libera por la desgranulación de mastocitos en respuesta a diversos estímulos. Actúa sobre la microcirculación uniéndose a los receptores H1 en las células endoteliales. La serotonina (5-hidroxitriptamina) posee acciones similares a las de la histamina pero de forma menos pronunciada. Está presente en plaquetas, células enterocromafines y en mastocitos de roedores (Gázquez Ortiz, 1991; Kumar y col., 2006).

2) Proteínas plasmáticas: sistema de complemento, sistema quinina y sistema de coagulación. El sistema de complemento es un grupo de compuestos de glucoproteínas plasmáticas, se encuentran en mayor concentración en el plasma, funciona en la inmunidad y en la defensa contra agentes microbianos. En presencia de la activación del complemento, un número de componentes causan un aumento de la permeabilidad vascular, quimiotaxis y opsonización. Sus funciones son la lisis



celular y los efectos de fragmentos proteolíticos del complemento. Los mediadores C3a y C5a estimulan la liberación de histamina de los mastocitos aumentando la permeabilidad vascular y produciendo vasodilatación. El C5a también activa la vía lipoxigenasa del metabolismo del ácido araquidónico (AA) en los neutrófilos y monocitos, produciendo una liberación de mediadores inflamatorios y es un agente quimiotáctico y activador para neutrófilos, monocitos, eosinófilos y basófilos. El C3b cuando se fija a la pared de la célula bacteriana, actúa como opsonina y favorece la fagocitosis por neutrófilos, eosinófilos y macrófagos. El factor C5b tiene acción lítica sobre las células parenquimatosas. El C3 y el C5 pueden activarse por varias enzimas proteolíticas presentes en el exudado inflamatorio. El sistema quinina al activarse da lugar a la liberación de bradiquinina. Esta aumenta la permeabilidad vascular y produce contracción del músculo liso y dilatación de los vasos sanguíneos. El sistema de coagulación se divide en dos vías, culminando en la activación de la trombina y la formación de fibrina. La trombina es la enzima que escinde el fibrinógeno soluble circulante para producir un coágulo insoluble de fibrina y es la proteasa más importante de la coagulación. La unión del receptor tipo 1 con las proteasas (trombina) desencadena varias respuestas que inducen inflamación. Incluyen la movilización de la selectina P, la producción de quimiocinas y la expresión de moléculas de adhesión en el endotelio para integrinas del leucocito; la inducción de la ciclooxigenasa-2 y la producción de prostaglandinas; la producción de PAF (factor activador de plaquetas) y óxido nítrico, y los cambios en el endotelio. Estas respuestas favorecen el reclutamiento de leucocitos y muchas otras reacciones de inflamación. Al mismo tiempo que el factor XIIa está induciendo la coagulación, también puede activar al sistema fibrinolítico. Esta cascada compensa la coagulación escindiendo la fibrina, solubilizando por ello el coágulo de fibrina. El sistema fibrinolítico contribuye al fenómeno vascular de la inflamación de varias maneras. El activador de plasminógeno (liberado por el endotelio, leucocitos y otros tejidos) escinde el plasminógeno, para generar plasmina. La plasmina activa el factor XII de modo que inicia la cascada que origina a la bradiquinina. La bradiquinina es originada por la calicreína sobre el precursor quinínogeno, provoca vasodilatación y contracción del músculo liso (Kumar y col., 2006). Esta lisa los coágulos de fibrina, también escinde el C3 para producir fragmentos de él, y degrada la fibrina para formar productos de fragmentación que pueden dar propiedades inductoras de permeabilidad (Gázquez Ortiz, 1991).

3) Metabolitos del ácido araquidónico. El ácido araquidónico (AA) se libera de fosfolípidos mediante la acción de las fosfolipasas celulares. Sus metabolitos se sintetizan por ciclooxigenasas (prostaglandinas y tromboxanos) y lipoxigenasas (leucotrienos y lipoxinas). La ciclooxigenasa (COX-1 y COX-2) da lugar a la generación de prostaglandinas, las más importantes en la inflamación son PGE₂, PGD₂, PGF₂α, PGI₂ y TxA₂. Este es un potente agente agregador de plaquetas y vasoconstrictor. La PGI₂ es un vasodilatador, un inhibidor potente de la agregación plaquetaria, y potencia el aumento de la permeabilidad y los efectos quimiotácticos de otros mediadores. La lipoxigenasa (5-LO) es la enzima predominante en los neutrófilos, su producto final, quimiotáctico para neutrófilos, se convierte en leucotrienos. El leucotrieno B₄ es un agente quimiotáctico y activador de la respuesta funcional del neutrófilo. Las lipoxinas son las que inhiben el reclutamiento leucocitario, los componentes celulares de la inflamación, la quimiotaxis de neutrófilos y su adhesión al endotelio (Kumar y col., 2006).

4) Factor activador de plaquetas (PAF). Produce vasoconstricción y en concentraciones bajas vasodilatación y aumento de la permeabilidad venular. También produce aumento de la adhesión de los leucocitos al endotelio, la quimiotaxis, la desgranulación y el estallido oxidativo (Kumar y col., 2006).

5) Citocina y quimiocina. Las citocinas son proteínas producidas por linfocitos, macrófagos activados, células del endotelio, epitelio y tejido conectivo. Están implicadas en respuestas celulares inmunitarias, y estos productos tienen efectos adicionales en la inflamación aguda y crónica. El factor de necrosis tumoral (TNF) y la interleucina-1 (IL-1) son las dos citocinas principales que median en la inflamación. Las quimiocinas son proteínas pequeñas que actúan primariamente como quimioatrayentes para tipos específicos de leucocitos. Se clasifican en cuatro grupos: las quimiocinas α actúan sobre los neutrófilos, se segregan por los macrófagos activados, células endoteliales y causan una activación y quimiotaxis de neutrófilos; las quimiocinas β atraen monocitos, eosinófilos, basófilos y linfocitos pero no neutrófilos; las quimiocinas γ son específicas de los linfocitos; y la quimiocina CX3C existe en dos formas: como proteína ligada a la superficie de la célula produciendo una adhesión de monocitos y células T; y como proteína soluble, con actividad quimioatrayente para las mismas células (Kumar y col., 2006).

6) Oxido nítrico (ON). Es un vasodilatador potente, él y sus derivados son microbicidas. También es un mediador de la defensa del huésped contra la infección (Kumar y col., 2006).

7) Constituyentes lisosomales de los leucocitos. Los neutrófilos y monocitos contienen gránulos lisosomales que cuando se liberan pueden contribuir a la respuesta inflamatoria. Los neutrófilos tienen dos tipos principales de gránulos, los de menor tamaño llamados específicos (o secundarios) y los grandes azurófilos (o primarios). Ambos tipos pueden vaciarse dentro de las vacuolas fagocíticas que se forman alrededor del material ingerido, o su contenido puede liberarse en el espacio extracelular. Los gránulos específicos se secretan extracelularmente con facilidad y con menores concentraciones de agonistas, mientras que los azurófilos, potencialmente más destructivos, liberan sus contenidos primariamente dentro del fagosoma y requieren niveles elevados de agonistas para liberarse extracelularmente (Kumar y col., 2006).

8) Radicales libres derivados del oxígeno. Pueden liberarse extracelularmente de los leucocitos tras su exposición a microbios, quimiocinas e inmunocomplejos, o después de un estímulo fagocitario (Kumar y col., 2006).

9) Neuropeptidos. Actúan en la iniciación y propagación de una respuesta inflamatoria (Kumar y col., 2006).

4.4.2.1 Acontecimientos celulares.

i) Extravasación. Es el pasaje de células desde la luz de los vasos al tejido intersticial (Kumar y col., 2006). Comprende los fenómenos de marginación, pavimentación y emigración. La sangre fluye lentamente al principio de la inflamación, hay cambios hemodinámicos y más células blancas asumen una posición periférica a lo largo de la superficie endotelial, a este proceso se le denomina marginación. Los leucocitos individuales, y luego filas de ellos, ruedan lentamente a lo largo del endotelio y se adhieren transitoriamente, parándose finalmente en algún punto donde se adhieren firmemente a las células endoteliales, proceso conocido como pavimentación. La emigración de los leucocitos se da por movimientos contráctiles y emisión de pseudópodos entre las uniones intercelulares

de las células endoteliales y toman posición entre la célula endotelial y la membrana basal manifestándose cambios en su núcleo y citoplasma, volviéndose alargados, por acción de la enzima colagenasa. Finalmente, atraviesan dicha membrana y escapan al espacio extravascular. Los neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos utilizan todos la misma vía para migrar desde la sangre a los tejidos. Los neutrófilos son los primeros en salir, aproximadamente a las 4 horas de la actuación del agente; luego aparecen los linfocitos. Los macrófagos emigran a las 12 horas, los linfocitos a las 24 horas y los fibroblastos a los 6 días (Gázquez Ortiz, 1991; Kumar y col., 2006).

Después de la extravasación, los leucocitos migran en los tejidos hacia el sitio de la lesión mediante un proceso denominado quimiotaxis. Ésta es la reacción por la cual las sustancias químicas que están alrededor de las células, determinan su dirección de locomoción. La locomoción de fagocitos mononucleares también es debida a factores quimiotácticos (Gázquez Ortiz, 1991; Kumar y col., 2006).

ii) Fagocitosis. Es un fenómeno activo de degradación responsable de la eliminación de agentes nocivos, producido por enzimas lisosómicas de estructuras inertes o vivas, penetran en las células por endocitosis. No todas las células tienen esta capacidad, sí los fagocitos y fagocitos facultativos, determinadas células vierten sus gránulos lisosómicos al medio extracelular son los eosinófilos y neutrófilos. El fagocito tiene que aproximarse a la partícula extraña y contactar con ella; posteriormente la engloba en una vacuola o fagosoma, sobre la que actúan enzimas hidrolíticas degradando el material fagocitado. Los productos lisosómicos deben ser controlados (por antiproteasas) para no causar efectos no deseados (Gázquez Ortiz, 1991; Kumar y col., 2006). El proceso de la fagocitosis implica tres fases: fase de reconocimiento y contacto, fase de ingestión y fase de degradación y muerte.

Fase de reconocimiento y contacto: los neutrófilos y macrófagos pueden interiorizar el agente causal uniéndose o no a receptores específicos. La eficacia de la fagocitosis se potencia en gran medida cuando los microbios están opsonizados por proteínas específicas (opsoninas) para las cuales los fagocitos expresan receptores de alta afinidad (Kumar y col., 2006).

Fase de ingestión: la unión de una partícula a los receptores del leucocito fagocitado inicia el proceso de fagocitosis activa de la partícula. Durante la ingestión, pseudópodos fluyen alrededor de la partícula que se va a interiorizar, dando lugar a un encerramiento completo de la misma dentro de un fagosoma creado por la membrana plasmática de la célula, produciendo además un cambio en el metabolismo basal. La membrana limitante de esta vacuola fagocítica se funde con la membrana limitante de un gránulo lisosomal, dando lugar a la descarga de los contenidos del gránulo en el fagolisosoma. Durante este proceso, el neutrófilo y el monocito se desgranulan progresivamente (Gázquez Ortiz, 1991; Kumar y col., 2006).

Fase de degradación y muerte: llevada a cabo por los neutrófilos y macrófagos, ocurre más eficazmente después de la activación de los linfocitos. La degradación de material inerte como la muerte de agentes vivos se acompaña de mecanismos dependientes e independientes de oxígeno. Tras la muerte, las hidrolasas ácidas, que están almacenadas normalmente en los lisosomas, degradan los microbios dentro del fagolisosoma (Gázquez Ortiz, 1991; Kumar y col., 2006).

Tras la fagocitosis, los neutrófilos rápidamente sufren muerte celular apoptótica y son ingeridos por los macrófagos (Kumar y col., 2006).

Resultados de la inflamación aguda. Se puede dar la resolución completa que implica la neutralización o la eliminación espontánea de los mediadores químicos, el retorno a la permeabilidad vascular normal, el cese del infiltrado leucocitario, la muerte de los neutrófilos y, finalmente, la eliminación del líquido del edema y las proteínas, leucocitos, agentes extraños y residuos necróticos del sitio de la inflamación. Otra respuesta consiste en la curación por reemplazo de tejido conectivo (fibrosis) que ocurre tras la destrucción tisular cuantiosa, cuando la agresión inflamatoria implica tejidos incapaces de regeneración, o cuando existe una exudación abundante de fibrina. También puede progresar a inflamación crónica, ésta transición ocurre cuando la respuesta inflamatoria aguda no puede resolverse, debido a la persistencia de agente nocivo o a alguna interferencia con el proceso normal de curación (Kumar y col., 2006).

4.4.3 Inflamación crónica.

Es una inflamación de duración prolongada (semanas o meses) en la cual la inflamación activa, destrucción tisular e intento de reparación se suceden simultáneamente (Kumar y col., 2006). Se debe a la persistencia del agente inflamatorio o a agentes inflamatorios que desde el principio producen inflamación crónica (Bochsler y Slauson, 2002). Los signos cardinales de la inflamación han desaparecido. Los cambios hemodinámicos no existen y el exudado celular está representado por macrófagos y linfoblastos. La terminación de esta forma se produce por la cicatrización del territorio afectado y proliferación de fibras de colágeno (Gázquez Ortiz, 1991).

Las causas son: infecciones persistentes por ciertos microorganismos, virus, hongos y parásitos; exposición prolongada a agentes potencialmente tóxicos (exógenos o endógenos); y autoinmunidad (Kumar y col., 2006).

La inflamación crónica se manifiesta mediante fenómenos proliferativos no granulomatosos, mientras que en aquellos casos que se desarrollen fenómenos inmunológicos, se provoca una forma granulomatosa. Estas modificaciones también afectan a la red vascular y al infiltrado celular. Al inicio de una respuesta inflamatoria en la sustancia fundamental, se vierte líquido hemático convirtiéndose en un material en estado de gel, posteriormente este tiende a licuarse por la acción de enzimas bacterianas (hialuronidasa), y aparece en ella una gran cantidad de mucopolisacáridos con capacidad de activar la formación de tejido conectivo. En esta formación participan fundamentalmente fibroblastos y también células cebadas. En ciertas ocasiones tan solo existe un infiltrado celular más o menos abundante, se suele disponer preferentemente alrededor de capilares o constituyendo cúmulos de eosinófilos, macrófagos o linfocitos. A este proceso se le llama inflamación crónica proliferativa (Gázquez Ortiz, 1991).

Cuando el monocito alcanza el tejido extravascular, sufre una transformación a una célula fagocítica más grande, el macrófago, elemento celular dominante en la inflamación crónica. La activación da lugar a un aumento del tamaño celular, a un aumento de enzimas lisosomales, metabolismo más activo y mayor capacidad de fagocitar y destruir microbios ingeridos. Los macrófagos activados secretan productos biológicamente activos que, si no se controlan, ocasionan lesión tisular y fibrosis característica de la inflamación crónica. Otros tipos celulares presentes en la inflamación crónica incluyen: linfocitos, células plasmáticas, eosinófilos y mastocitos. Los linfocitos y los macrófagos interactúan en una vía de dos sentidos. Los macrófagos muestran antígenos a las células T y producen moléculas de membrana

(coestimuladoras) y citoquinas (IL-12) que estimulan las respuestas de la célula T. Los linfocitos T activados producen citoquinas, y una de ellas, el IFN- γ , es un activador principal de macrófagos (Kumar y col., 2006).

La respuesta inflamatoria puede abocar finalmente a un proceso de resolución, a una organización o a una regeneración. La resolución es el completo retorno a la normalidad del tejido inflamado. Las células que participan en la inflamación, así como los procesos enzimáticos, han procedido de una manera eficiente. El tejido recupera totalmente su estructura. La organización implica la acción de macrófagos, fibroblastos y neoformación de capilares, dando lugar a la producción de fibras de colágeno, y a una estructuración particular de la zona afectada, tendiente a la cicatrización. La regeneración se produce cuando existen células no afectadas, desde las cuales se reestablece el tejido que se ha perdido por el fenómeno inflamatorio; esto ocurre principalmente con el tejido epitelial (Gázquez Ortíz, 1991).

4.4.3.1 Inflamación crónica granulomatosa.

Es un patrón distintivo de reacción inflamatoria crónica caracterizada por la acumulación focal de macrófagos activados que, con frecuencia, desarrollan una apariencia semejante al epitelio (epiteliode). Se encuentra en un número limitado de afecciones mediadas inmunológicamente, infecciosas y no infecciosas (Kumar y col., 2006).

Un granuloma es un foco de inflamación crónica que consiste en la emigración de macrófagos que se transforman en células semejantes a las epiteliales rodeadas por un collar de leucocitos mononucleares (linfocitos y células plasmáticas). Los granulomas se desarrollan dentro de un anillo de fibroblastos y tejido conectivo. Frecuentemente, las células epitelioides se funden para formar células gigantes en la periferia o en el centro del granuloma. Existen dos tipos de granuloma que difieren en su patogenia, los granulomas de cuerpo extraño y los inmunitarios. Los primeros están provocados por cuerpos extraños relativamente inertes, se forman cuando los materiales son lo suficientemente grandes como para impedir su fagocitosis por un único macrófago, formándose entonces células epitelioides y células gigantes que se superponen a la superficie y abarcan el cuerpo extraño (Kumar y col., 2006).

4.4.3.2 Inflamación crónica no granulomatosa.

La respuesta inflamatoria crónica puede mantenerse bajo tres modelos, según sea el predominio de los fenómenos: fibroconectivos (inflamación crónica fibrosa), celulares (inflamación crónica proliferativa celular) o parenquimatosos (inflamación crónica hiperplásica) (Gázquez Ortíz, 1991).

4.4.4 Funciones de las células que participan en los procesos de inflamación.

Fibroblastos y fibrocitos. Se trata de una célula sintetizadora de fibras. Su principal función es la síntesis de colágeno y aparecen en el inicio de las respuestas inflamatorias crónicas (Gázquez Ortíz, 1991).

Monocitos y macrófagos. En el citoplasma de los monocitos son característicos los abundantes gránulos pequeños azurófilos, que contienen enzimas hidrolíticas considerados lisosomas primarios. Degradan mejor que los neutrófilos. Son más activos sintetizando y liberando sustancias al exterior. Una vez en el tejido conjuntivo los monocitos dan lugar a macrófagos, que frente a agentes de alto poder patógeno aumentan su capacidad fagocitaria y lisosómica formando las denominadas células epitelioides, que a su vez pueden dar lugar a células gigantes mediante fenómenos

sincitiales. En el citoplasma de los macrófagos se destaca la gran cantidad de vacuolas, lisosomas y cuerpos residuales (Gázquez Ortiz, 1991).

Mastocitos o células cebadas. Son similares a los basófilos, pero con granulaciones metacromáticas cuyo contenido es de heparina, histamina y en la rata contiene además serotonina (Gázquez Ortiz, 1991).

Plasmocitos o células plasmáticas. Derivan de los linfocitos B activados y producen anticuerpos dirigidos contra antígenos persistentes en el sitio de la inflamación o contra componentes alterados de los tejidos, se desplazan mediante movimientos ameboides lentos (Gázquez Ortiz, 1991; Kumar y col., 2006).

Linfocitos. Su citoplasma presenta escasos gránulos azurófilos pero contiene numerosos ribosomas. Existen dos tipos de linfocitos: T y B (Gázquez Ortiz, 1991).

Neutrófilos. Su función principal es la fagocitosis, responden a numerosos factores quimiotácticos, y contienen en su membrana receptores de opsoninas (C3b y Fc) (Gázquez Ortiz, 1991).

Eosinófilos. Están presentes en los procesos en que existen reacciones antígeno-anticuerpos, responden a factores quimiotácticos derivados del complejo de complemento. Segregan sustancias que intervienen en el metabolismo de sustancias histamínicas (Gázquez Ortiz, 1991).

Basófilos. Sus gránulos contienen histamina y heparina por lo que se asemejan a los gránulos de las células cebadas. Su capacidad fagocítica es casi nula, tienen movimientos mediante pseudópodos (Gázquez Ortiz, 1991).

Plaquetas. La rotura de la pared vascular, debido a determinados estímulos, provoca la salida de gránulos plaquetarios portadores de los factores de coagulación y de enzimas lisosómicas (Gázquez Ortiz, 1991).

4.5 ANIMALES DE LABORATORIO.

Todas las ratas de laboratorio son descendientes de ratas silvestres pero la domesticación y manipulación dejó atrás características indeseables (OPS y Centro Panamericano de Zoonosis, 1974)

Es la especie más empleada en investigación biomédica, frecuencia que se justifica teniendo en cuenta el volumen de información existente acerca de ella, su poco costo de mantenimiento, facilidad de manejo, relativa rusticidad e indicación para una amplia gama de procesos experimentales (Harkness y Wagner, 1980).

En cuanto al sistema de alojamiento debe tenerse en cuenta que el mismo influye en el bienestar de los animales y en el control de los experimentos. Debe diseñarse para proveerlos de espacio suficiente para que puedan moverse con cierta libertad, facilitarles el acceso a alimentos y agua limpios, alojándolos en grupos en proporciones tales que no originen hacinamiento (Consejo Canadiense de Protección de los Animales, 1998; Zúñiga y col., 2001). Los animales adultos tienen unas exigencias de espacio que se evalúan en unos 250 cm² para animales de unos 300 gramos de peso corporal. Las camas pueden confeccionarse con papel, virutas de madera blanca, alfalfa, aserrín, etc.; es decir con materiales absorbentes, libres de polvo, atóxicos y, hasta donde sea posible, no determinantes de alergias (Harkness y Wagner, 1980).

Para su nutrición los alimentos deben tener un 24% de proteína y 4% de fibra bruta. Estos deben mantenerse en recipientes cerrados a temperatura ambiente o preferiblemente inferior (Harkness y Wagner, 1980).

Los animales no deben ser tomados de la cola para su manipulación ya que la piel se desprenderá fácilmente durante los esfuerzos efectuados para liberarse (OPS y Centro Panamericano de Zoonosis, 1974; Consejo Canadiense de Protección de los Animales, 1998; Zúñiga y col., 2001)

Para el sacrificio de los mismos el sistema a emplear en cada caso dependerá de la especie involucrada y del destino del cadáver. Los métodos pueden ser: administración intracardíaca, intravenosa o intraperitoneal de una sobredosis de pentobarbital o de una preparación de barbitúrico altamente concentrado; éter, cloroformo, nitrógeno o dióxido de carbono en una cámara especial (el éter es muy irritante para los ojos y tracto respiratorio, y junto a su efecto anestésico debe manipularse con cierto cuidado); sistemas físicos (fractura craneal o cervical) por separación de la médula espinal en la región cervical o golpe certero en la parte posterior de la cabeza (Harkness y Wagner, 1980; Consejo Canadiense de Protección de los Animales, 1998; Zúñiga y col., 2001).

5) OBJETIVOS

Objetivo general:

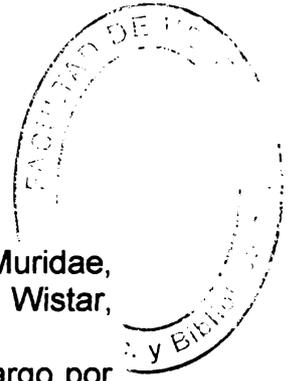
- ❖ Determinar si existe presencia de infiltración celular que denote una respuesta inflamatoria en el tejido subcutáneo frente a los implantes de mallas de polipropileno y de polietileno en ratas de laboratorio.

Objetivos específicos:

- ❖ Identificar los cambios histológicos producidos en la dermis por los diferentes tipos de implantes de mallas (polipropileno y polietileno).
- ❖ Cuantificar los diferentes tipos celulares presentes en la dermis de la piel del flanco de ratas adultas luego de la colocación de implantes de mallas de polipropileno y de polietileno.
- ❖ Analizar a lo largo del período postoperatorio el proceso de inflamación generado por la presencia de un cuerpo extraño (malla de polipropileno o de polietileno) en la dermis de ratas de laboratorio.

6) HIPÓTESIS

- ❖ Hipótesis nula: no existen diferencias estadísticamente significativas entre la respuesta tisular originada por el implante de malla de polipropileno y el de polietileno en el tejido celular subcutáneo de ratas de laboratorio (*Rattus norvegicus*) de la cepa Wistar.
- ❖ Hipótesis alternativa: existen diferencias estadísticamente significativas entre la respuesta tisular originada por el implante de malla de polipropileno y el de polietileno en el tejido celular subcutáneo de ratas de laboratorio (*Rattus norvegicus*) de la cepa Wistar.



7) MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Animales.

Se utilizaron 20 ratas (n=20) (clase: Mamífera, orden: Rodentia, familia: Muridae, género: Rattus, especie: norvegicus) (Harkness y Wagner, 1980) de la cepa Wistar, de ambos sexos y de 200 gramos de peso promedio.

Las ratas se mantuvieron en cajas de plástico de 60 cm. (centímetros) de largo por 20 cm. de ancho, por 20 cm. de altura con capacidad para 10 animales. Se utilizó cama de viruta y cada cinco días se realizó su cambio (Consejo Canadiense de Protección de los Animales, 1998; Zúñiga y col., 2001). La alimentación fue balanceada y administrada *ad libitum*, al igual que el agua. A fin de asegurar el bienestar animal se procuró que la comida y el agua estuvieran limpias y libres de contaminantes, fuera palatable y nutritiva (Consejo Canadiense de Protección de los Animales, 1998; Zúñiga y col., 2001). El agua se suministró con bebederos de chupete. A lo largo de todo el ensayo experimental los animales permanecieron a una temperatura promedio de 22°C y humedad relativa entre el 30 - 70% (Harkness y Wagner, 1980).

7.2 Diseño experimental.

Todos los animales (n=20) fueron intervenidos quirúrgicamente para la colocación de implantes de dos tipos de mallas diferentes: polipropileno (PP) en la región del flanco izquierdo y polietileno (PE) en la región del flanco derecho.

Región de implante
de malla de
polietileno.



Región de implante
de malla de polipropileno

Figura 1. Imagen que ilustra las regiones de implante de los diferentes tipos de mallas (polipropileno y polietileno).

Los animales fueron distribuidos al azar en cuatro grupos de 5 animales. El primer grupo de ratas fueron eutanasiadas a los 14 días postoperatorio. El segundo grupo fueron eutanasiadas al día 28 postoperatorio. El tercer grupo de ratas fue eutanasiado a los 42 días postoperatorio. Por último el cuarto grupo fue eutanasiado al día 56 postoperatorio.

7.3 Técnica quirúrgica y descripción de la obtención de muestras.

Las ratas fueron intervenidas quirúrgicamente bajo condiciones rutinarias de asepsia (material esterilizado, ropa blanca, guantes, batas, mesa de operaciones, luz adecuada) (Consejo Canadiense de Protección de los Animales, 1998; Zúñiga y col., 2001). La sujeción se realizó situando los dedos alrededor del cuello, tronco y patas delanteras, con los dedos índice y pulgar inmediatamente por detrás de las mandíbulas (Harkness y Wagner, 1980)

Se anestesiaron por vía intraperitoneal con Ketamina-Xilacina a dosis de 50 mg/kg de Ketamina + 7,5 mg/kg de Xilacina (Comisión Honoraria de Experimentación Animal, 2006). Se realizó tricotomía en la región media de ambos flancos.

Del lado izquierdo se efectuó una incisión cráneo-caudal de piel y tejido subcutáneo de 2 cm. de longitud, con bisturí mango N°3 y hoja N°15. Una vez lograda la exposición del tejido muscular se procedió a colocar un fragmento de malla de polipropileno (PP) de 1 cm. de largo por 1 cm. de ancho entre el tejido subcutáneo y el plano muscular. La herida operatoria se suturó en un plano con puntos separados con hilo de seda N° 3-0. Del lado derecho se repitió el mismo procedimiento para la colocación de un fragmento de malla de polietileno (PE) de 1 cm. de largo por 1 cm. de ancho.

Durante el postoperatorio los animales permanecieron alojados hasta la fecha de la eutanasia en las instalaciones donde fueron intervenidos, manteniendo un adecuado equilibrio de líquidos, cuidado de la incisión quirúrgica y parámetros fisiológicos (Consejo Canadiense de Protección de los Animales, 1998; Zúñiga y col., 2001).

Previo al sacrificio las ratas fueron pesadas nuevamente, los pesajes en todos los casos fueron muy similares a los obtenidos al inicio del ensayo (300 grs.+/- 50). La eutanasia se llevó a cabo a los días 14 (n=5), 28 (n=5), 42 (n=4) y 56 (n=4) postoperatorio. Para la eutanasia se utilizó 0,1-0,2 cc. (centímetros cúbicos) de Xilacina al 2% y 5 cc de Tiopental al 2,5% por vía intraperitoneal (Comisión Honoraria de Experimentación Animal, 2006). La misma es una técnica indolora, rápida, que permite un tránsito tranquilo desde la plena conciencia a la muerte (Harkness y Wagner, 1980).

Posteriormente se efectuó tricotomía y la incisión de piel y subcutáneo en ambos flancos para la obtención de muestras de ambas mallas, cada una con una porción de tejido circundante.

Para la identificación de las muestras obtenidas se utilizó el siguiente código, por ejemplo: R 14 PO/1, donde R: rata, n° PO: número de días postoperatorio, /1: número de animal sacrificado.

Para diferenciar entre las mallas utilizadas se consideró a las letras PP para el polipropileno y PE para el polietileno.

El primer grupo eutanasiado de 5 animales se realizó el día 14 postoperatorio (R 14 PO/1 - R 14 PO/5)

El día 28 postoperatorio se sacrificó a otros 5 animales (R 28 PO/1 - R 28 PO/5).

A los 42 días postoperatorio fueron sacrificadas 4 ratas (R 42 PO/1 - R 42 PO/ 4).

El último grupo fue eutanasiado el día 56 postoperatorio (R 56 PO/ 1 - R 56 PO/4).

7.4 Procesamiento histológico.

Las muestras histológicas fueron obtenidas de forma rápida inmediatamente después de realizada la eutanasia. Los trozos de piel se fijaron en formol bufferado al 10%, y se colocaron en recipientes identificados para su posterior estudio histológico.

El procesamiento histológico se realizó en el Laboratorio de Histología del Departamento de Morfología y Desarrollo, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República. Las muestras fueron disecadas para retirar la malla del tejido circundante, luego fueron deshidratadas en concentraciones crecientes de etanol, inmersas en xilol e incluidas en bloques de parafina.

Protocolo de procesamiento de muestras:

1. lavado en agua corriente 20 minutos
2. deshidratación: alcohol 70°/30 minutos
alcohol 95°/30 minutos
alcohol 100°/30 minutos
3. inmersión en xilol / 50 minutos
4. inclusión: parafina I / 15 minutos
parafina II / 15 minutos
parafina III / 15 minutos
5. al solidificar la parafina se retiró el bloque.

La muestra R28 PO/3 (PE) fue reincluida siendo imposible su procesamiento. Las muestras R14 PO/1 (PE), R42 PO/4 (PE), R56 PO/1 (PP) y R56 PO/4 (PP) no se pudieron cortar por su dureza. El número de muestras cambió por lo anterior a 31.

Se elaboraron 6 cortes histológicos de 5µm. de espesor por muestra (n=31) utilizando micrótopo Reichert Jung 2030 Germany con cuchillas marca Leica Disposable Microtome Blades 819. Dichos cortes fueron coloreados con la técnica de tinción de hematoxilina y eosina.

Soluciones requeridas: A) Hematoxilina de Harris.

B) Eosina al 0,5 %.

Método de coloración:

1. desparafinado en xilol 10 a 15 minutos.
2. hidratar con alcoholes de graduación decrecientes (100-70%). Dejar en alcohol 100%, en alcohol 96 %, y alcohol 70%. Efectuar los cambios cada 2 o 3 minutos cada uno. Lavar en agua destilada.
3. colorear con solución A 5 minutos.
4. lavar en agua para sacar exceso de colorante.
5. virar en agua corriente 5 minutos.
6. colorear con solución B 2 minutos.
7. lavar con agua corriente.
8. lavar con agua destilada.
9. deshidratación con alcoholes de concentración creciente: alcohol 70%, alcohol 96%, alcohol 100%, 2 a 3 minutos cada uno.
10. aclarar en xilol.
11. montar en bálsamo. Colocar una gota de bálsamo y el cubreobjetos.
12. identificar.

El montaje se realizó colocando una gota de bálsamo de Canadá y el cubreobjeto tratando de que no quedaran burbujas de aire entre las dos láminas (Ribas, 1980). Se identificó cada lámina con el mismo código que se utilizó para identificar a las muestras, agregándole el número de lámina (/1- /6).

7.5 Análisis histológico cuantitativo.

Se utilizaron en total 31 muestras de piel y tejido subcutáneo (Cuadro 1). Se observaron los preparados histológicos y se captaron imágenes digitales (10 por cada muestra) a una magnificación final de 400 aumentos mediante un sistema de análisis (microscopio BX50, Olympus, Tokio, Japón; cámara digital SSC-C158P, Sony, Tokio, Japón, y computadora personal con el software Image Pro Plus®, Media Cybernetics, Silver Spring, MA, USA).

Cuadro 1. Total de muestras procesadas.

Tratamiento	Días postoperatorio			
	14	28	42	56
PP	n = 5	n = 5	n = 4	n = 2
PE	n = 4	n = 4	n = 3	n = 4

PP = polipropileno, PE = polietileno, n = número de muestras.

En cada campo se realizó la observación y conteo de los diferentes tipos celulares. Las variables cuantitativas estudiadas fueron: número de neutrófilos, plasmocitos, linfocitos, fibroblastos, eosinófilos, mastocitos, macrófagos y basófilos presentes en el conjuntivo de la dermis.

7.6 Análisis estadístico.

Se construyó una base de datos en una hoja de cálculo de Microsoft Excel. Primariamente se realizó el análisis estadístico descriptivo con medidas de tendencia central, de dispersión y de forma, utilizando el paquete estadístico de dicho programa.

Luego se analizaron las variables a estudiar por medio del programa estadístico Statgraphics Plus for Windows versión 3.1 (Statistical Graphic Corporation, 1997, Estados Unidos); en el cual utilizamos el Modelo Lineal General (GLM). Este modelo trabaja con variables dependientes (tipos celulares) y factores categóricos (tratamientos, días postoperatorio, animal). Se calculó en él la Suma de Cuadrados Tipo III relacionando al tratamiento por los días de sacrificio y al animal dentro del día de sacrificio, para cada uno de los tipos celulares tomando como referencia una $p < 0.01$. Por último se realizó los gráficos de interacción con los valores de medias e intervalos LSD para confrontar los datos celulares e indicar si hubo o no diferencias estadísticamente significativas entre ambos tratamientos y en las diferentes etapas de sacrificio.

8) RESULTADOS

Ninguno de los animales manifestó signos de enfermedad sistémica, depresión o septicemia.

No se observaron síntomas de rechazo del implante. Macroscópicamente en el sitio de la herida quirúrgica se observó signos leves de inflamación en la primera semana del postoperatorio (eritema), pero ninguno de los animales presentó hematoma, seroma, absceso ni fístulas.

En los lugares de la incisión quirúrgica no fue encontrado en ningún caso alteraciones macroscópicas en los puntos de sutura.

En ninguna de las cuatro etapas de sacrificio se tuvo dificultades para la obtención de muestras y su posterior fijación.

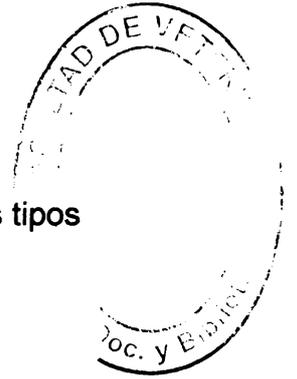
Durante el postoperatorio dos ratas murieron por causas ajenas al implante (se encontraron muertas fuera de las cajas plásticas), por lo cual el número de animales pasó a ser 18 (n=18).

En la tabla I se muestran los datos obtenidos del estudio histológico cuantitativo realizado a partir de la observación microscópica a 400 aumentos.

Tabla I. Conteo total de células inflamatorias en el tejido conjuntivo, evaluadas en el período postoperatorio luego del implante de malla de polipropileno y de polietileno en ratas.

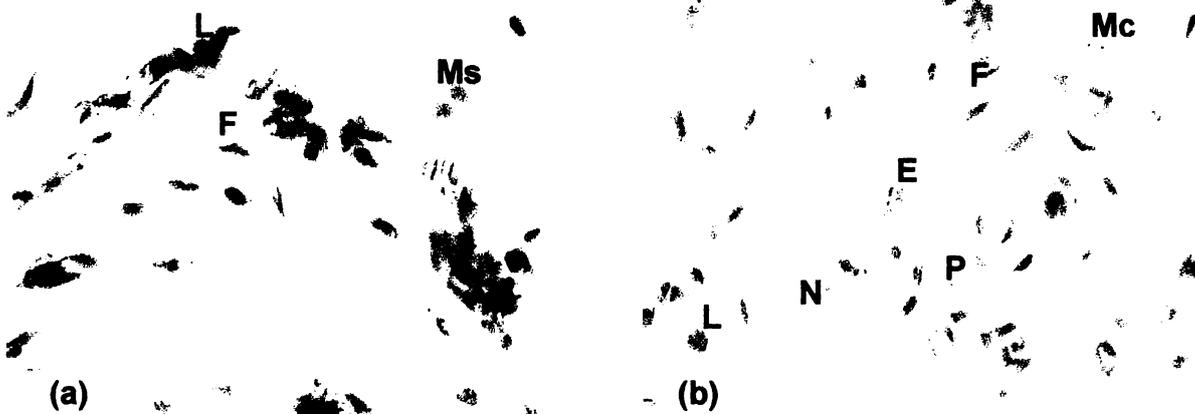
Día PO	Animal	N		P		L		F		E		Masto		Macro		B	
		PP	PE	PP	PE	PP	PE	PP	PE	PP	PE	PP	PE	PP	PE	PP	PE
14	1	7	-	22	-	37	-	136	-	9	-	0	-	16	-	0	-
14	2	4	30	10	41	20	25	115	176	2	7	0	0	5	13	0	2
14	3	2	5	15	12	71	24	128	174	0	13	7	0	2	11	1	0
14	4	4	20	26	17	11	70	184	295	5	1	1	1	5	14	0	0
14	5	6	10	19	22	18	12	104	178	14	0	0	0	8	11	0	0
28	1	14	8	22	18	18	27	327	198	1	9	0	0	10	1	0	0
28	2	16	9	14	10	16	28	130	214	5	6	0	0	6	8	1	0
28	3	4	-	21	-	17	-	224	-	1	-	0	-	15	-	0	-
28	4	25	2	24	11	43	11	156	156	9	0	0	0	12	4	0	0
28	5	3	1	18	13	27	27	261	172	1	4	0	0	2	11	0	0
42	1	7	2	9	9	75	21	189	158	3	0	0	0	3	6	0	0
42	2	13	4	14	3	90	69	206	225	5	9	0	0	8	10	0	0
42	3	11	5	6	25	162	23	286	192	2	2	0	4	6	4	0	0
42	4	7	-	6	-	31	-	255	-	1	-	0	-	8	-	0	-
56	1	-	3	-	10	-	18	-	204	-	1	-	0	-	11	-	0
56	2	3	0	2	2	8	8	144	111	1	0	8	0	1	9	0	0
56	3	3	1	3	9	7	11	144	160	1	2	0	0	3	6	0	0
56	4	-	1	-	6	-	5	-	149	-	0	-	0	-	2	-	0

PO = postoperatorio, N = neutrófilo, P = plasmocito, L = linfocito, F = fibroblasto, E = eosinófilo, Masto = mastocito, Macro = macrófago, B = basófilo, PP = polipropileno, PE = polietileno, - sin muestras.



Las siguientes imágenes reflejan la respuesta inflamatoria causada por los dos tipos de implantes de mallas (PP y PE) en la dermis de ratas (figuras 2, 3, 4 y 5).

Figura 2. Corte histológico (400 aumentos) que rodeaba a la malla de polipropileno (a) y de polietileno (b) después de 14 días del implante.



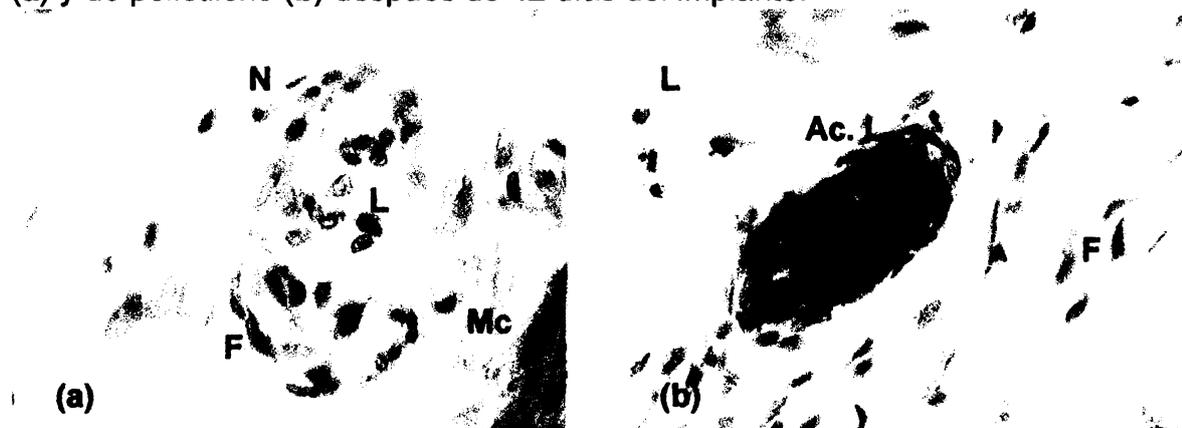
Se observa la presencia de neutrófilos (N), plasmocitos (P), linfocitos (L), fibroblastos (F), eosinófilos (E), mastocitos (Ms), macrófagos (Mc).

Figura 3. Corte histológico (400 aumentos) que rodeaba a la malla de polipropileno (a) y de polietileno (b) después de 28 días del implante.



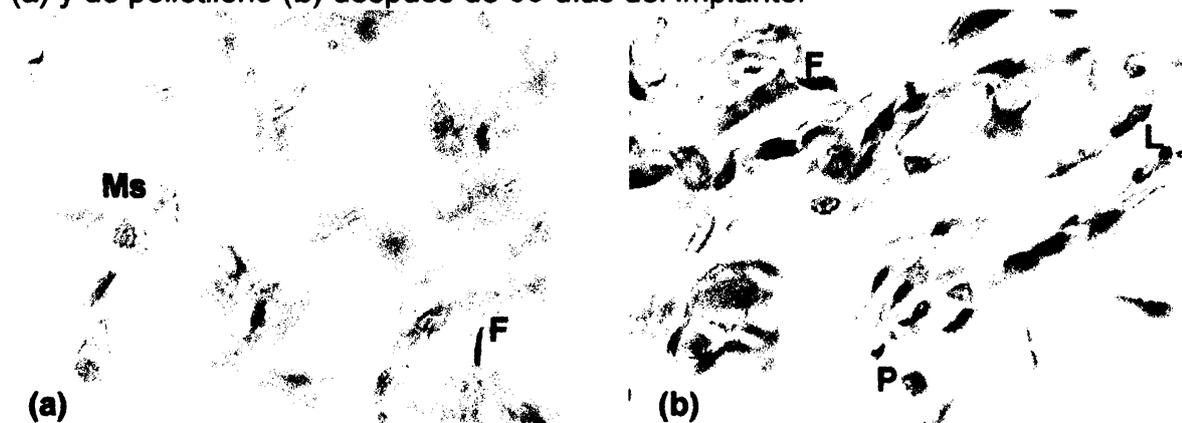
Se observa la presencia de neutrófilos (N), plasmocitos (P), linfocitos (L), fibroblastos (F), eosinófilos (E).

Figura 4. Corte histológico (400 aumentos) que rodeaba a la malla de polipropileno (a) y de polietileno (b) después de 42 días del implante.



Se observa la presencia de neutrófilos (N), linfocitos (L), fibroblastos (F), macrófagos (Mc), Acumulo de linfocitos (Ac. L).

Figura 5. Corte histológico (400 aumentos) que rodeaba a la malla de polipropileno (a) y de polietileno (b) después de 56 días del implante.



Se observa la presencia de plasmocitos (P), linfocitos (L), fibroblastos (F), mastocitos (Ms).

En lo que respecta al estudio estadístico, en las tablas II, III, IV y V se presenta el análisis descriptivo para los diferentes tipos celulares evaluados en el conteo microscópico. En el mismo se incluyen:

- medidas de tendencia central (media, mediana y moda).
- medidas de dispersión (amplitud, varianza, y desvío estándar).
- medidas de forma (coeficiente de asimetría).

Tabla II. Análisis estadístico descriptivo de los datos obtenidos a partir del conteo celular en la dermis de ratas, en el día 14 de sacrificio y para los dos tratamientos.

Día PO	Células	Trat.	Media	Mediana	Moda	Amplitud	Varianza	Coef. asim.	Desvío standar
14	Neutrófilo	PP	0.46	0	0	4	0.66	2.27	0.81
		PE	1.62	1	1	9	4.80	1.99	2.19
14	Plasmocito	PP	1.84	2	2	8	3.20	1.32	1.79
		PE	2.30	1	1	9	6.31	1.50	2.51
14	Linfocito	PP	3.14	2	2	62	75.51	6.60	8.69
		PE	3.27	2	2	25	23.69	2.99	4.86
14	Fibroblasto	PP	13.34	10	9	51	103.66	2.06	10.18
		PE	20.57	17	16	52	142.19	1.20	11.92
14	Eosinófilo	PP	0.60	0	0	8	2.24	3.65	1.50
		PE	0.52	0	0	9	2.30	4.80	1.51
14	Mastocito	PP	0.16	0	0	5	0.54	6.07	0.74
		PE	0.02	0	0	1	0.02	6.32	0.15
14	Macrófago	PP	0.72	0	0	4	1.06	1.03	1.65
		PE	1.22	1	0	5	1.72	1.07	1.31
14	Basófilo	PP	0.02	0	0	1	0.02	0.14	7.07
		PE	0.05	0	0	2	0.10	6.32	0.32

PO = postoperatorio, Trat = tratamiento, Coef. asim. = coeficiente de asimetría, PP = polipropileno, PE = polietileno.

Tabla III. Análisis estadístico descriptivo de los datos obtenidos a partir del conteo celular en la dermis de ratas, en el día 28 de sacrificio y para los dos tratamientos.

Día PO	Células	Trat.	Media	Mediana	Moda	Amplitud	Varianza	Coef. asim.	Desvío standar
28	Neutrófilo	PP	1.24	1	0	6	2.26	1.51	1.50
		PE	0.50	0	0	3	0.97	2.19	0.99
28	Plasmocito	PP	1.98	2	0	8	3.57	1.03	1.89
		PE	1.30	1	1	5	1.86	1.21	1.36
28	Linfocito	PP	2.42	1	0	27	17.6	4.35	4.20
		PE	2.33	2	2	14	8.53	2.64	2.92
28	Fibroblasto	PP	21.96	18.5	13	61	151.9	1.71	12.3
		PE	18.50	18.0	22	28	50.05	0.82	7.08
28	Eosinófilo	PP	0.34	0	0	2	0.39	1.68	0.62
		PE	0.46	0	0	4	0.82	2.37	0.91
28	Mastocito	PP	0	0	0	0	0	*	0
		PE	0	0	0	0	0	*	0
28	Macrófago	PP	0.9	0	0	4	1.35	1.17	1.16
		PE	0.6	0	0	2	0.5	0.76	0.71
28	Basófilo	PP	0.02	0	0	1	0.02	7.07	0.14
		PE	0.02	0	0	1	0.02	6.33	0.16

* el coeficiente de asimetría dio error, PO = postoperatorio, Trat = tratamiento, Coef. asim. = coeficiente de asimetría, PP = polipropileno, PE = polietileno.

Tabla IV. Análisis estadístico descriptivo de los datos obtenidos a partir del conteo celular en la dermis de ratas, en el día 42 de sacrificio y para los dos tratamientos.

Día PO	Células	Trat.	Media	Mediana	Moda	Amplitud	Varianza	Coef. asim.	Desvío standar
42	Neutrófilo	PP	0.95	1	0	5	1.49	1.53	1.22
		PE	0.37	0	0	2	0.38	1.50	0.61
42	Plasmocito	PP	0.87	0	0	5	1.39	1.63	1.18
		PE	1.23	1	0	7	3	2.03	1.74
42	Linfocito	PP	8.95	6	2	60	122	2.76	11.05
		PE	3.77	1	1	46	72.4	4.52	8.51
42	Fibroblasto	PP	23.4	22	23	63	140.6	1.29	11.86
		PE	19.2	19	19	23	34	0.53	5.83
42	Eosinófilo	PP	0.27	0	0	3	0.51	3.07	0.72
		PE	0.37	0	0	3	0.72	2.43	0.85
42	Mastocito	PP	0	0	0	0	0	*	0
		PE	0.13	0	0	3	0.33	4.78	0.57
42	Macrófago	PP	0.62	0	0	2	0.55	0.74	0.74
		PE	0.67	0	0	3	0.85	1.31	0.92
42	Basófilo	PP	0	0	0	0	0	*	0
		PE	0	0	0	0	0	*	0

* el coeficiente de asimetría dio error, PO = postoperatorio, Trat = tratamiento, Coef. asim. = coeficiente de asimetría, PP = polipropileno, PE = polietileno

Tabla V. Análisis estadístico descriptivo de los datos obtenidos a partir del conteo celular en la dermis de ratas, en el día 56 de sacrificio y para los dos tratamientos.

Día PO	Células	Trat.	Media	Mediana	Moda	Amplitud	Varianza	Coef. asim.	Desvío standar
56	Neutrófilo	PP	0.30	0	0	2	0.33	1.84	0.57
		PE	0.12	0	0	2	0.16	3.48	0.40
56	Plasmocito	PP	0.25	0	0	2	0.30	2.24	0.55
		PE	0.67	0	0	4	1.10	1.55	1.05
56	Linfocito	PP	0.75	0	0	6	2.10	2.80	1.45
		PE	1.05	1	0	7	2.05	2.17	1.43
56	Fibroblasto	PP	14.4	13.5	21	27	58.36	0.08	7.64
		PE	15.6	15	15	27	33.37	0.53	5.78
56	Eosinófilo	PP	0.10	0	0	1	0.09	2.89	0.31
		PE	0.07	0	0	1	0.07	3.35	0.27
56	Mastocito	PP	0.40	0	0	6	1.83	4.13	1.35
		PE	0	0	0	0	0	*	0
56	Macrófago	PP	0.20	0	0	1	0.17	1.62	0.41
		PE	0.70	1	0	3	0.63	0.93	0.79
56	Basófilo	PP	0	0	0	0	0	*	0
		PE	0	0	0	0	0	*	0

* el coeficiente de asimetría dio error, PO = postoperatorio, Trat = tratamiento, Coef. asim. = coeficiente de asimetría, PP = polipropileno, PE = polietileno.

Utilizando el Modelo General Lineal (GLM) analizamos los valores de probabilidad (p) para cada una de las células evaluadas en este ensayo. Se calculó el valor de p para los tratamientos por días y para animal entre días. Los mismos se resumen en el cuadro 2. Se tomó un $p < 0.01$ con un nivel de confianza de 99%.

Cuadro 2. Valores de p para los diferentes tipos celulares relacionando tratamiento por día; y animal entre días postoperatorio.

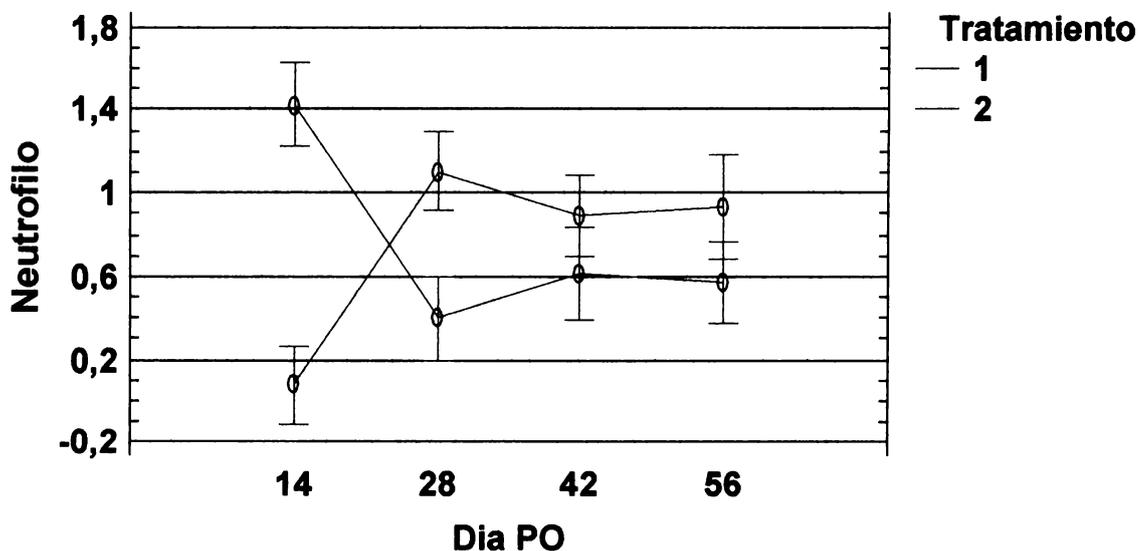
Célula	Tratamiento * Día PO	Animal (Día PO)
Neutrófilo	0.0000	0.0023
Plasmocito	0.0838 ns	0.3419 ns
Linfocito	0.0013	0.0396 ns
Fibroblasto	0.0000	0.0002
Eosinófilo	0.7343 ns	0.8487 ns
Mastocito	0.0941 ns	0.1793 ns
Macrófago	0.0744 ns	0.1371 ns
Basófilo	0.9258 ns	0.7943 ns

ns = no significativo ($p > 0.01$).

* = por, PO = postoperatorio, () = entre.

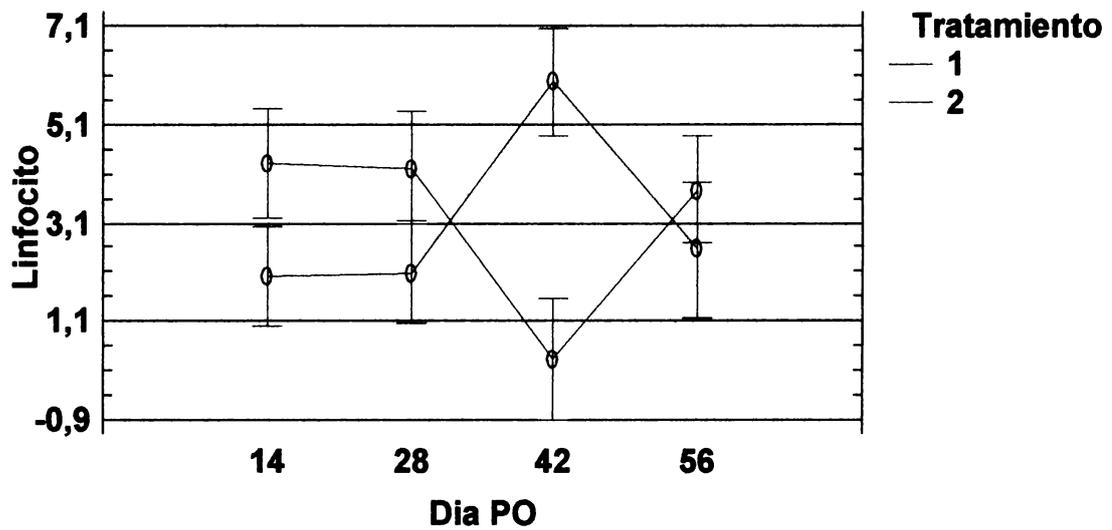
Los tipos celulares que marcaron diferencias estadísticamente significativas en el cuadro anterior (neutrófilos, linfocitos y fibroblastos) se muestran a continuación en los correspondientes gráficos. En los mismos se exponen ambos tratamientos confrontados para ver la interacción de los tipos celulares en el correr de los días postoperatorio (gráficos I, II y III).

Gráfico I. Número de neutrófilos (medias e intervalos LSD) en los cuatro días de sacrificio y para ambos tratamientos.



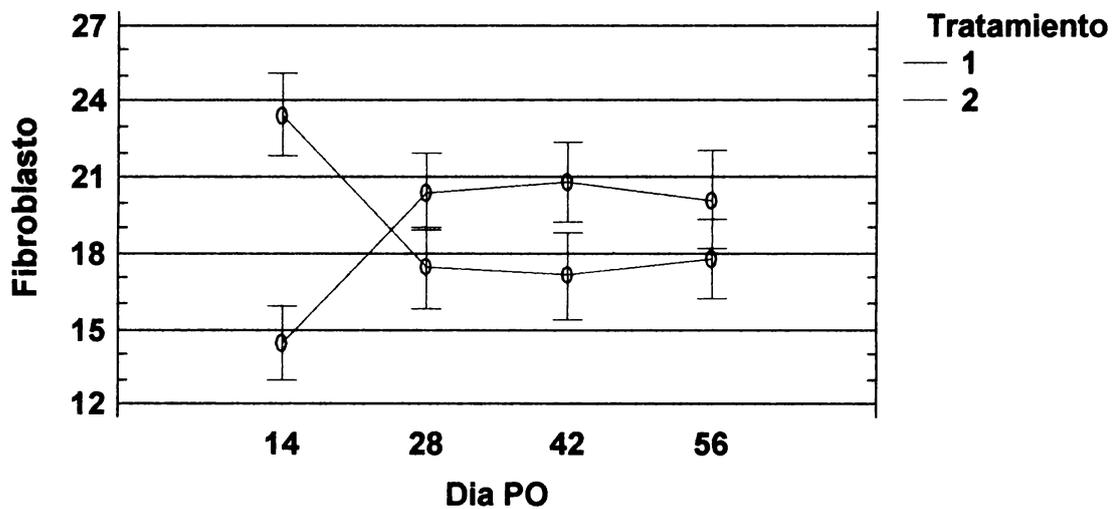
1 = polipropileno, 2 = polietileno, PO = postoperatorio.

Gráfico II. Número de linfocitos (medias e intervalos LSD) en los cuatro días de sacrificio y para ambos tratamientos.



1 = polipropileno, 2 = polietileno, PO = postoperatorio.

Gráfico III. Número de fibroblastos (medias e intervalos LSD) en los cuatro días de sacrificio y para ambos tratamientos.



1 = polipropileno, 2 = polietileno, PO = postoperatorio.



9) DISCUSIÓN

La característica más favorable de un biomaterial es que no afecte al organismo, sin embargo, por ser un cuerpo extraño siempre habrá una reacción inflamatoria, lo importante es que no sea grave.

Es conocido el comportamiento del polipropileno en el tratamiento de hernias tanto en medicina animal como humana (Matera y col., 1981; Hedlund, 2004; Mortari y Canevese, 2005).

El uso clínico en cirugía veterinaria del polietileno de alta densidad en la reparación de hernias perineales en pequeños animales no ha sido documentado en la bibliografía disponible. En nuestro medio se han realizado ensayos clínicos usando polietileno de alta densidad en la reparación de hernias en perros y gatos, con resultados favorables (Möller R.) (2007). Comunicación personal.

En nuestro ensayo no se evidenciaron signos macroscópicos (abscesos o fístulas) de rechazo a los implantes de polipropileno (de uso en cirugía humana y animal) ni de polietileno (material en estudio) lo cual evidencia la similitud de respuesta entre ambos materiales. Los dos animales que murieron fueron por causas ajenas al procedimiento ya que se encontraron fuera de las cajas plásticas.

Con respecto al protocolo para el procesamiento histológico de las muestras se destaca que tras varios intentos se logró una técnica específica para el procesamiento de la piel de ratas. En las primeras pruebas se intentó procesar las muestras con las correspondientes mallas, al comprobar que las mismas eran indegradables en xilol se optó por su disección.

En el presente trabajo la respuesta inflamatoria inducida por los dos tipos de mallas fue de carácter crónica. Hacia el día 56 postoperatorio dicha respuesta fue declinando. Esto podría indicar que la mayor causa de esa respuesta sea la propia del tejido celular frente a una injuria o cualquier tipo de cuerpo extraño.

De los ocho tipos celulares estudiados solamente tres estuvieron presentes en número suficiente en ambos tipos de implante. Los mastocitos y basófilos, no estaban presentes en la mayoría de los campos estudiados. Esto está indicando que el comportamiento del organismo frente a ambos tipos de material protésico es similar, favoreciendo las bondades del uso de polietileno como alternativa al polipropileno.

Al analizar la tabla I se observa que en el día 14 postoperatorio los neutrófilos, fibroblastos, plasmocitos y macrófagos fueron encontrados en mayor cantidad en el tratamiento con polietileno respecto al de polipropileno. Los linfocitos y eosinófilos y basófilos aparecieron en similares cantidades en ambos tratamientos. El número de mastocitos contabilizados fue mayor en las muestras provenientes del implante de polipropileno en relación al de polietileno. Al día 28 postoperatorio los linfocitos, eosinófilos y basófilos se encontraron en cantidades similares. En el caso de los neutrófilos, plasmocitos, fibroblastos y macrófagos la cifra de células fue superior en el tratamiento con polipropileno frente al de polietileno. Al día 42 postoperatorio los mastocitos se observaron en más cantidad en el caso del implante de polietileno al compararlos con los encontrados en el implante de polipropileno; los eosinófilos y los

macrófagos y plasmocitos no mostraron diferencias entre tratamientos. En cambio para el ensayo con polipropileno el número de neutrófilos, linfocitos y fibroblastos fue mayor que el encontrado en el tratamiento con polietileno.

Por último al día 56 el conteo de neutrófilos, plasmocitos linfocitos, fibroblastos y macrófagos fue superior en el experimento con polietileno, en tanto que para los eosinófilos dicho conteo fue similar en ambos tratamientos. Los mastocitos para este caso fueron mayores en cantidad en el procedimiento con polipropileno en relación al de polietileno.

En resumen, la presencia de basófilos, mastocitos y eosinófilos fue escasa en ambos tratamientos y en todos los períodos postoperatorios. Por otra parte los plasmocitos y macrófagos fueron encontrados en un número mayor que los anteriores, pero las diferencias cuantitativas para ambas células entre los dos tratamientos no fueron importantes (en algunos casos a favor del polietileno y en otros a favor del polipropileno).

Los datos más relevantes del ensayo los expresaron los neutrófilos, linfocitos y fibroblastos. Observando las tablas II, III, IV y V del conteo celular en promedio, podemos decir que para los neutrófilos al día 14 postoperatorio fue superior en el ensayo con polietileno con respecto al polipropileno. En el día 28 postoperatorio ésta situación cambió, continuando así hasta el día 56 en el cual los valores llegaron a ser similares y bajos.

El número de linfocitos en los días 14 y 28 postoperatorio fue equivalente en ambos tratamientos, disminuyendo hacia el día 28. Al día 42 postoperatorio estos valores volvieron a aumentar, notándose un pico más pronunciado en el tratamiento con polipropileno (esto fue debido a que en observaciones de preparados histológicos de dos animales sacrificados para esta instancia se encontraron cúmulos de ésta célula). En el día 56 postoperatorio en los dos tratamientos se alcanzaron valores similares y bajos.

En el caso de los fibroblastos los valores promedio fueron diferentes en el día 14 postoperatorio, siendo mayor para el tratamiento con polietileno. En el día 28 postoperatorio se produjo una disminución de los fibroblastos cuantificados en el caso del tratamiento con polietileno y un aumento en el tratamiento con polipropileno, pasando el mismo a tener valores superiores. En el día 42 postoperatorio ambos valores aumentaron, pero al día 56 (al igual que en los dos casos anteriores) descendieron bruscamente, llegando a ser similares y considerablemente bajos.

Al comparar nuestro trabajo con el de Rossa y col. (2005) que utilizó polietileno en ratas, a diferencia de estos autores no encontramos células gigantes multinucleadas; sin embargo sí observamos la presencia de neutrófilos (polimorfonucleares) en todas las etapas postoperatorias, el autor solo en las etapas iniciales. En ambos experimentos la malla de polietileno se mantuvo íntegra en el cuerpo de los animales.

Asimismo se encontraron resultados similares con el trabajo reportado por Matera y col. (1981). Estos autores utilizaron polipropileno en perros con hernias perineales y al igual que en nuestros resultados, no se encontraron reacciones macroscópicas en la zona del implante en todo el período postoperatorio.

En el análisis estadístico al relacionar al tratamiento por día se encontraron diferencias estadísticamente significativas para los neutrófilos, linfocitos y fibroblastos (las mismas células que en la tabla I mostraron los valores más relevantes). Sin embargo, al referirse al animal entre días sólo los neutrófilos y fibroblastos mostraron diferencias estadísticamente significativas.

Los gráficos se interpretaron comparando como evolucionó el número promedio de células evaluadas con sus respectivos intervalos LSD en el transcurso de las etapas del postoperatorio. Los intervalos LSD nos indican si existe o no diferencias estadísticamente significativas en cada etapa del postoperatorio. Si los intervalos se juntan o superponen podemos decir que no hay diferencias estadísticamente significativas, por el contrario si ambos intervalos se alejan diremos que existen diferencias estadísticamente significativas.

Al día 14 postoperatorio los resultados obtenidos en cuanto al número de células fue mayor el obtenido en el tratamiento con polietileno en los tres tipos celulares existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos tratamientos para los neutrófilos y fibroblastos. Para el día 28 postoperatorio los linfocitos continuaron siendo superiores en el tratamiento con polietileno, mientras que los neutrófilos y fibroblastos fueron superiores en el ensayo con polipropileno existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos tratamientos solo para los neutrófilos. Al día 42 postoperatorio los menores valores los presentó el polietileno existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos tratamientos para los linfocitos y fibroblastos. Al día 56 postoperatorio la situación se mantuvo igual para los fibroblastos y neutrófilos, pero invirtiéndose para los linfocitos no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos tratamientos para ningún tipo celular.

10) CONCLUSIONES

- ❖ En nuestro ensayo experimental se observó que el implante subcutáneo de polietileno de alta densidad en ratas provocó reacción inflamatoria crónica al igual que el polipropileno.
- ❖ La respuesta inflamatoria desde el punto de vista histológico fue similar. Aproximadamente a los dos meses del implante de ambas mallas los valores de las células presentes en el proceso inflamatorio llegaron a niveles bajos.
- ❖ Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos tratamientos en tres de los ocho tipos celulares evaluados (neutrófilos, linfocitos y fibroblastos) en los días 14, 28 y 42 postoperatorio, rechazando de esta manera la hipótesis nula que planteaba que no existían dichas diferencias.
- ❖ En base a los resultados obtenidos, podemos decir que el polipropileno podría ser reemplazado por el polietileno de alta densidad, en cirugía de hernias perineales en pequeños animales.
- ❖ Se hacen necesarios estudios futuros relativos a la permanencia de implantes de polietileno de alta densidad por largos períodos *in vivo* que demuestren la biocompatibilidad de este material en su uso prolongado.
- ❖ El uso del polietileno de alta densidad podría hacerse extensivo a otros tipos de hernias, aplicarse en la corrección de otras intervenciones quirúrgicas, y utilizarse en otras especies animales.

11) BIBLIOGRAFÍA

1. Arlie, J. (1990) Commodity Thermoplastics. Paris, Technip, 112p.
<http://es.wikipedia.org/wiki/Polipropileno>. <http://es.wikipedia.org/wiki/Polietileno>
2. Bacha W., Bacha L. (2001) Atlas color de Histología Veterinaria. 2a ed. Buenos Aires, Inter-Médica, 308p.
3. Bloom W., Fawcett D. W. (1995) Tratado de Histología. 12a. ed. Madrid, Mc. Graw-Hill Interamericana, 1044p.
4. Bochler P., Slauson D. (2002) Inflammation and Repair of tissue. En: Slauson D., Cooper B. Mechanisms of Disease: A text book of comparative general pathology. 3a ed. St Louis, Mo, Mosby, pp.141-245.
5. Bowman K., Birchard S., Bright R. (1998) Complications Associated with the Implantation of Polypropylene Mesh in Dogs and Cats: A Retrospective Study of 21 Cases (1984-1996). Am J Vet Res; 34:225-233.
6. Uruguay. Universidad de la República. Comisión Honoraria de Experimentación Animal (2006) Manejo de Animales de Experimentación. Tradicionales y No tradicionales. Montevideo, Oficina del Libro, 101p.
7. Consejo Canadiense de Protección de los Animales (1998) Manual sobre el cuidado y uso de los animales de experimentación. 2a ed. Ottawa, Bradda Printing Services, 323p.
8. Deldar, A. (1994) Sangre y Médula Ósea. En: Dellmann, H.-D. Histología Veterinaria. 2a ed. Zaragoza, Acribia, pp.59-86.
9. Gázquez Ortiz, A. (1991) Patología Veterinaria. Madrid, Mc. Graw- Hill Interamericana, 501p.
10. Gordon A., D' Lima D., Colwell C. (2006) Polietileno reticulado en prótesis totales de cadera. J Amer Acad Orthop Surg; 5:15-27.
11. Gutiérrez, J. (2002) Estudio de la respuesta tisular a una asociación experimental versus cemento convencional. Lima, tesis digitales UNMSM (Universidad Nacional Mayor de San Marcos), 102p. Disponible en:<http://sisbib.unmsm.edu.pe//Bibvirtual/tesis/Salud/Gutiérrez.L.J/Gutiérrez.L.J.htm>. Fecha de consulta: 06/02/2008.
12. Harkness J., Wagner J. (1980) Biología y Clínica de conejos y roedores. Zaragoza, Acribia, 182p.
13. Hedlund, Ch. S. (2004) Cirugía del sistema digestivo. En: Welch Fossum, T. W. Cirugía en pequeños animales. 2a. ed. Buenos Aires, Inter -Médica, pp.292-479.

14. Hedlund, Ch. (2004) *Hernia Perineal: Diagnóstico y Tratamiento*. Waltham Focus; 14:5-11.
15. Kumar V., Abbas A., Fausto N. (2006) *Robbins y Cotran Patología Estructural y Funcional*. 7a ed. Madrid. Elsevier, 1517p.
16. López J., Guaimás Moya L., Báez A., Lockett M., Ludueño S., Resoagli J., Holovate R., Amarilla O., Maidana H., López Ramos M. (2004) Tratamiento quirúrgico de las hernias perineales mediante el uso injerto de pericardio conservado en glicerina al 98% (resultados preliminares). *Corrientes, Universidad Nacional del Nordeste. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas 2004*, 3p. Disponible en: <http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/com2004/4-Veterinaria/V-022.pdf>. Fecha de consulta: 08/02/2008.
17. Matera A., De Moraes P., Stopiglia A., Randi R. (1981) *Hérnia Perineal no cão. Tratamento cirúrgico mediante utilização de malha de polipropileno*. *Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo*; 18:37-41.
18. Matera A., Randi R., Spicciati W. (1989) *Correção cirúrgica de defeitos do pavilhão auricular. Emprego de malha de polipropileno*. *Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo*; 26:85-91.
19. Monteiro-Riviere N., Stinson Al., Calhoun H. (1994) *Integumento*. En: Dellmann, H.-D. *Histología Veterinaria*. 2a ed. Zaragoza, Acribia, pp.323-353.
20. Mortari A., Canevese S. (2005) *Hérnia perineal em cães*. *Ciencia Rural*; 35:1220-1228.
21. Naudie D., Ammeen D., Engh G., Rorabeck C. (2007) *Desgaste y osteólisis en prótesis totales de rodilla*. *J Amer Acad Orthop Surg*; 6:59-70.
22. Nicholson, J. (2006) *The Chemistry of Polymers*. 3a ed. Berlín, Royal Society of Chemistry, 212p. <http://es.wikipedia.org/wiki/Polipropileno>
<http://es.wikipedia.org/wiki/Polietileno>
23. Nyhus, B. (1986) *El dominio de la cirugía*. Vol. 2. Buenos Aires, Médica Panamericana, 2074p.
24. Orduña M., Valencia S., Velarde J. (2003) *Hernia Perineal*. Córdoba, 20p. Disponible en: [http://www.uco.es/organiza/departamentos/anatomia-y-anatopatologica/peques/Hernia Perineal.doc](http://www.uco.es/organiza/departamentos/anatomia-y-anatopatologica/peques/Hernia%20Perineal.doc). Fecha de consulta: 10/02/08.
25. Organización Panamericana de la Salud, Centro Panamericano de Zoonosis (1974) *Manual para técnicos en animales de laboratorio*. Buenos Aires, Centro Panamericano de zoonosis, 262p.
26. Ormrod, A. N. (1969) *Técnicas quirúrgicas en el perro y el gato: una guía práctica*. México, CECSA, 299p.

27. Ribas, O. (1980) *Histología*. 9a ed. Montevideo, Monteverde, 114p.
28. Rossa R., Ferreira Dos Santos J., Mesquita J., Silva B., Lorenz A. (2005) Reações teciduais às inclusões subcutâneas do polietileno poroso em ratos. *Rev. Pós. Grad.*; 12:323-329.
29. Scctwart, Spencer S., Fischer D. (2000) *Principios de cirugía* Vol. 2. 7a ed. México, Ed. Mc Graw- Hill Interamericana, 2397p.
30. Sherding R. G. (2002) *Enfermedades gastrointestinales*. En: Birchard S. J. Sherding R. G. *Manual clínico de procedimientos en pequeñas especies*. Vol. 1. 2a. ed. Madrid, Mc. Graw-Hill Interamericana, pp.1039-1049.
31. Sherding R. G. (2007) *Enfermedades del intestino delgado*. En: Ettinger S. J. Feldman E. C. *Tratado de Medicina Interna Veterinaria*. Vol. 2. 6a ed. Madrid, Elsevier, pp.1408-1420.
32. Smythe R. H., Shuttleworth A. C. (1966-1977) *Clínica Quirúrgica Veterinaria*. 2 vol. México, CECSA.
33. Stinson Al., Brown E., Calhoun M. (1994) *Epitelio*. En: Dellmann, H.-D. *Histología Veterinaria*. 2a ed. Zaragoza, Acribia, pp.17-30.
34. Van Sickle D., Dieter H., Brown E. (1994) *Tejidos Conjuntivo y de Sostén*. En: Dellmann, H.-D. *Histología Veterinaria*. 2a ed. Zaragoza, Acribia, pp.31-58.
35. Wheeler J. T., Donadío E., Rovere R. (1995) *Utilización de placas fabricadas en polipropileno*. *Rev. Med. Vet. (Bs. As.)*; 76:436-439.
36. Wheeler J. T., González H. (1998) *Efectos locales de los implantes de polipropileno en el perro. Observaciones preliminares*. *Sel. Vet.*; 6:436-439.
37. Willard M. D. (2005) *Enfermedades Intestinales*. En: Nelson R. W, Couto C. G. *Medicina Interna de Animales Pequeños*. Vol. 1. 3a ed. Buenos Aires, Inter-Médica, pp.459-498.
38. Zúñiga J., Tur J., Milocco S., Piñeiro R. (2001) *Ciencia y Tecnología en protección animal y experimentación animal*. Mc Graw Hill- Interamericana, Madrid, 682p.