



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

FACULTAD DE VETERINARIA

INSTITUTO UNIVERSITARIO DE SANIDAD ANIMAL

ESTUDIO DE LA CORRELACIÓN ENTRE LOS SIGNOS CLÍNICOS Y LOS HALLAZGOS PATOLÓGICOS EN PERROS Y GATOS CON ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

DAVID ALFREDO FARRAY SANTANA

Las Palmas de Gran Canaria, 2021

A mi madre y a mi padre

A Silvia y a David

“Sólo sé que no sé nada”

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUCCIÓN | 8 |
| 2. OBJETIVOS | 9 |
| 3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA | 10 |
| 3.1. MORFOFISIOLOGÍA GASTROINTESTINAL..... | 10 |
| 3.2. ESTÓMAGO..... | 10 |
| 3.2.1 CONSTITUCIÓN ESTRUCTURAL DE LA PARED DEL ESTÓMAGO..... | 10 |
| 3.2.3. FUNCIONES Y REGULACIÓN DEL ESTÓMAGO..... | 12 |
| 3.2.4. CLASIFICACIÓN HISTOLÓGICA DE LAS ENFERMEDADES GÁSTRICAS..... | 13 |
| 3.2.4.1. ULCERACIÓN GÁSTRICA..... | 13 |
| 3.2.4.2. NECROSIS GÁSTRICA DISTINTA A LA ULCERACIÓN..... | 13 |
| 3.2.4.3. FIBROSIS MUCOSA GÁSTRICA Y ATROFIA..... | 14 |
| 3.2.4.4.- GASTRITIS..... | 14 |
| 3.2.4.4.1.- Gastritis aguda..... | 14 |
| 3.2.4.4.2.- Gastritis crónica..... | 14 |
| 3.2.4.4.3.-GASTRITIS CRÓNICA DE ETIOLOGÍA DESCONOCIDA..... | 15 |
| 3.2.5.-NEOPLASIAS GÁSTRICAS..... | 16 |
| 3.3.- INTESTINO..... | 17 |
| 3.3.1.-INTESTINO DELGADO..... | 17 |
| 3.3.2.-INTESTINO GRUESO..... | 18 |
| 3.4.-PATOLOGIA INTESTINAL..... | 20 |
| 3.4.1.-PATOLOGÍAS DE INTESTINO DELGADO..... | 20 |
| 3.4.1.1.-ENTERITIS LINFOPLASMOCITARIAS..... | 20 |
| 3.4.1.2.-ENTEROPATÍA DE BASENJI..... | 22 |
| 3.4.1.3.-ENTERITIS EOSINÓFILICA..... | 22 |
| 3.4.1.4.-ENTERITIS GRANULOMATOSA..... | 23 |
| 3.4.1.5.-ENTERITIS PROLIFERATIVA..... | 23 |
| 3.4.1.6.-LINFANGIECTASIA..... | 23 |
| 3.4.1.7.-ENTEROPATÍAS CON PÉRDIDA DE PROTEÍNAS..... | 26 |
| 3.4.1.8.-NEOPLASIAS INTESTINALES..... | 26 |
| 3.4.1.8.1.-LINFOMA INTESTINAL..... | 26 |
| 3.4.1.8.2.-ADENOCARCINOMA INTESTINAL..... | 27 |
| 3.4.1.8.3.-TUMORES DE MUSCULATURA LISA DE INTESTINO DELGADO..... | 27 |
| 3.4.1.8.4.-OTRAS NEOPLASIAS..... | 28 |
| 3.4.1.9.-SINDROME DEL INTESTINO CORTO..... | 28 |
| 3.4.1.10.-DESORDENES DE LA MOTILIDAD..... | 29 |
| 3.4.1.11.-ALTERACIONES EN LAMICROFLORA de INTESTINO DELGADO..... | 29 |
| 3.4.2.-ENFERMEDADES DE INTESTINO GRUESO..... | 30 |
| 3.4.2.1.-EVALUACIÓN DIAGNÓSTICA..... | 30 |
| 3.4.2.2.- PATOLOGIA DE INTESTINO GRUESO..... | 31 |
| 3.4.2.2.1.-INFECCIÓN..... | 31 |
| 3.4.2.2.2.-INFLAMACIÓN. Enfermedad inflamatoria intestinal..... | 35 |
| 3.4.2.2.3.-COLITIS..... | 37 |
| 3.4.2.2.5.-DIARREA DE INTESTINO GRUESO QUE RESPONDE A FIBRA..... | 39 |
| 3.5.- ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL..... | 39 |
| 3.5.1-PRESENTACIÓN DE LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL..... | 39 |
| 3.5.2.-ETIOPATOGENIA..... | 40 |

| | |
|--|-----------|
| 3.5.2.1-SISTEMA INMUNITARIO INTESTINAL Y LA TOLERANCIA ORAL..... | 40 |
| 3.5.3.-MORFOPATOLOGÍA Y ALTERACIONES INTESTINALES EN LA EII..... | 41 |
| 3.5.3.1.-LA ESTRUCTURA DE LA BARRERA EPITELIAL EN INTESTINO..... | 41 |
| 3.5.4.-DIAGNOSTICO DE LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL..... | 44 |
| 3.5.5.- DIAGNOSTICO DIFERENCIAL..... | 46 |
| 4. MATERIAL Y MÉTODOS..... | 49 |
| 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 59 |
| 6. CONCLUSIONES..... | 71 |
| 7 RESUMEN..... | 72 |
| 8 SUMMARY..... | 73 |
| 9 BIBLIOGRAFIA..... | 74 |
| 10. APÉNDICE 1.-..... | 87 |
| 11.APÉNDICE 2.-..... | 89 |

1. INTRODUCCIÓN

La salud de nuestras mascotas recibe un especial interés, ya que como los humanos son mamíferos homeotermos, con un amplio periodo de supervivencia, y que viven en el mismo nicho ecológico del ser humano, por lo que pueden actuar como centinelas de las patologías crónicas que afectan al hombre. Por estas razones, estos constituyen un excelente modelo para el estudio de las enfermedades crónicas y su relación con factores adversos a largo plazo. Las cuestiones que se suscitan sobre su biología, sus lesiones, sus respuestas a factores adversos ambientales, etc. Indican la necesidad de realizar estudios comparados con una visión global y multidisciplinar.

Dentro de las enfermedades crónicas que se describen en medicina veterinaria, las enfermedades digestivas conforman una de las casuísticas que con más frecuencia se presentan en perros y gatos. De esta manera, casi el 20% de los pacientes que llegan a nuestras consultas muestran algún proceso gastrointestinal (Simpson y Else, 1991). Dentro de estos procesos se incluye la enfermedad inflamatoria intestinal (IBD en inglés, siglas correspondientes a Inflammatory Bowel Disease), y que se describe como la presencia de signos gastrointestinales de más de tres semanas de duración, acompañados de evidencias de inflamación de la mucosa. La hipótesis principal aportada por muchos investigadores sobre esta enfermedad es que puede deberse a una respuesta inapropiada del sistema inmune a antígenos bacterianos o alimentarios (Hall y German 2007, Washabau y col., 2010, Willard y col., 2010). Esta teoría se sustenta en el incremento de inmunoglobulinas y la presencia de linfocitos T en la lámina propia y el epitelio intestinal (Washabau y col 2010). Trabajos más recientes han sugerido que determinadas razas como el Pastor Alemán, Basenji, Shar Pei y Soft-coated Wheaten terrier muestran condicionantes genéticos que podrían afectar a la respuesta inmune y la permeabilidad intestinal (Washabau y col 2010).

Según el tipo de infiltrado inflamatorio predominante presente en la lámina propia, se describen diferentes tipos de IBD, entre los que se incluye la enteritis linfoplasmocitaria, que se caracteriza por la presencia de linfocitos y células plasmáticas; enteritis eosinofílica, cuyo infiltrado está compuesto por eosinófilos, y enteritis neutrofílica, en caso de que el infiltrado esté compuesto en su mayoría por neutrófilos. Para llegar al diagnóstico definitivo de estos procesos se requiere el estudio histopatológico de las muestras obtenidas mediante endoscopia o biopsia (Washabau y col 2010). Desafortunadamente, uno de los problemas que se encuentran para evaluar adecuadamente estos procesos es cuantificar los hallazgos macroscópicos y correlacionarlos con los signos clínicos que presenta el animal. Desde hace más de una década, diferentes investigadores se han focalizado en la ausencia de estandarización para definir las características morfológicas e inflamatorias de muestras tomadas en perros y gatos con enfermedad gastrointestinal. No obstante, en los últimos años se ha logrado establecer una base de criterios comunes para clasificar los hallazgos histopatológicos de la enfermedad inflamatoria intestinal que permita la correcta evaluación de las muestras para realizar un diagnóstico adecuado.

A pesar de estos criterios comunes, solo existe un escaso número de estudios en medicina veterinaria que correlacionan de una forma detallada y exhaustiva los hallazgos clínicos con los histológicos en perros con IBD (García-Sancho y col 2007, Day y col 2008, Rychlik y col 2012, Allenspach y col 2019). Sin embargo, hasta la fecha no se ha identificado una sólida asociación entre los hallazgos clínicos y lesiones histológicas en perros y gatos con IBD.

2. OBJETIVOS

En este estudio se pretende estudiar de forma retrospectiva diferentes casos de perros y gatos con diagnóstico confirmado de IBD a partir de muestras de biopsia obtenidas mediante endoscopia o laparotomía, a la vez que se trata de obtener información suplementaria mediante técnicas inmunohistoquímicas.

Por lo tanto, los objetivos del presente estudio son:

- 1) Correlacionar los hallazgos clínicos y los cambios histológicos en perros y gatos diagnosticados de enfermedad inflamatoria intestinal.
- 2) Examinar la distribución de linfocitos T CD3 +, linfocitos B CD45 +, macrófagos CD68 +, proteína S-100 y células positivas para Foxp3 en el intestino delgado y colon de animales con signos clínicos y un diagnóstico histopatológico confirmado de EII (Enfermedad Inflamatoria Intestinal).

3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1. MORFOFISIOLOGÍA GASTROINTESTINAL. INTRODUCCIÓN GENERAL

El sistema digestivo se divide en diferentes segmentos donde se incluye la boca, la faringe, el tubo digestivo y órganos accesorios como los dientes, la lengua, glándulas salivares, el hígado y el páncreas. En el caso del tubo digestivo se incluyen el esófago, el estómago, así como el intestino delgado e intestino grueso, tapizado por una membrana serosa que se asocia con el hígado, páncreas y vesícula biliar (Sandoval, 1975; Sisson y Grossman's, 1985; Rhee, 2009; Quigley, 2013; Safrey, 2014). La faringe se continua con el esófago, un tubo musculomembranoso situado a la derecha del arco aórtico y dorsal a la tráquea (Sandoval 1975), y que se encuentra compuesta por músculo estriado en perros hasta su unión con el estómago, mientras que en gatos el primer tercio es estriado y al llegar a tórax se transforma en músculo liso (Van Haagen, 2013; Washabau y Day, 2013).

3.2. ESTÓMAGO

El estómago es una abertura entre esófago e intestino delgado, (Sandoval, 1975), posee una capa de epitelio columnar (Artis, 2008; Washabau y Day, 2013), tapizado por una mucosa glandular que controla el paso hacia intestino delgado, iniciando la absorción de nutrientes (Dockray, 1999; Simpson, 2013; Washabau y Day, 2013). Este conglomerado epitelial controla la expresión de genes asociados con la función de secreción determinando la renovación celular y la proporción de sus componentes celulares (Dockray, 1999), mientras que los componentes de la túnica muscular, formada por dos tipos de músculo liso en carnívoros, mezclan nutrientes y secreciones gástricas (Eurell y Frappier 2006; Saffrey, 2014).

El estómago se divide en cinco regiones: cardias, fundus, corpus, antrum y píloro que termina en duodeno (Sandoval, 1975; Wilcock, Day y Washabau, 2013; Smith y cols, 2013). La víscera se minimiza craneo caudalmente, y se distingue una cara craneal y otra bordeada por una curvatura menor y una mayor (Sandoval, 1975). El fundus y corpus monitorizan la ingesta y vaciado de líquidos que gracias al esfínter gastroesofágico evitan reflujo de fluido gástrico dentro de esófago y a través del esfínter pilórico, vacía el contenido hacia intestino delgado (Ettinger y Feldman, 2007; Washabau y Day, 2013)

3.2.1 CONSTITUCIÓN ESTRUCTURAL DE LA PARED DEL ESTÓMAGO

La pared del estómago está agrupada por estratos con morfología cilíndrica (Sandoval, 1975; Eurell y Frappier 2006, Tokuhara, 2019), conteniendo una capa mucosa, submucosa, muscular externa y serosa (Eurell, 2006; Chichlowski y Hale, 2008; Wilcock, Washabu, Day, 2013). La mucosa con epitelio glandular, y función digestiva, se encuentra mayormente en la porción pilórica. En la porción glandular hay tres áreas de mucosa: área gástrica, cardial y pilórica. (Washabau y Day, 2013) con una permeabilidad especializada, frente a la respuesta a estímulos extracelulares como bacterias, citoquinas y nutrientes (Turner, 2009).

1) Región glandular de la túnica mucosa

La mucosa limitada por el lumen está formada por un estrato simple de células epiteliales (Dockray, 1999, Chichlowski y Hale, 2008; Smith, y cols. 2013) que contiene pliegues y fosas gástricas, que se aplanan cuando se llena el estómago (Eurell y Frappier, 2006). La cubierta de células epiteliales con columnas altas, se sustituyen cada 3 - 4 días por células mitóticas de mucosa gástrica (Eurell y Frappier, 2006) renovándose por movimientos del contenido luminal (Dockray, 1999; Linden,2008), que depende del número de células proliferativas, y de la supervivencia celular y de su división a lo largo del eje cripta-vellosidad (Rezza, 2014; Parker y col, 2019).

Por debajo, encontramos la lámina propia donde hay glándulas gástricas unidas a tejido conectivo laxo, (Eurell y Frappier, 2006; Chichlowski y Hale, 2008; Pácha y Sumová, 2013).

2) Región glandular cardíaca

Formada por células cuboidales, con núcleos próximos a la porción basal de las células, ocupando la zona de unión entre la mucosa glandular y no glandular de los mamíferos domésticos. (Eurell y Frappier,2006; Linden, 2008). En perro y gato está región cardial delimita a una región estrecha en la abertura del cardias (Barker, 1993).

En carnívoros, la región glandular cardíaca es estrecha, y las glándulas gástricas propiamente dichas y pilóricas ocupan el resto del estómago. En perros, las regiones glandulares gástricas propias se dividen en dos zonas:

- a) zona de luz con mucosa delgada y fosas gástricas profundas con glándulas tortuosas cortas encontrándose en grupos que no alcanzan la lámina muscular.
- b) La zona oscura con mucosa más gruesa, fosas gástricas poco profundas y glándulas gástricas adecuadas que se parecen más a las de las otras especies. (Eurell y Frappier, 2006).

3) Región Glandular gástrica propiamente dicha (fúndica).

Se localiza en el fondo del estómago en perros y gatos. Son glándulas tubulares simples, caracterizada por cuello corto, cuerpo largo y fondo dilatado. El epitelio secretor está compuesto por cuatro tipos de células:

- Células mucosas del cuello, parecidas a células epiteliales superficiales, productoras de moco constituido por glucoproteínas, con citoplasma más basófilo (Dockray, 1999, Eurell y Frappier,2006; Turner, 2009).
- Células principales, cuboidales o piramidales, poseen un extenso retículo endoplásmico rugoso basófilo, denominadas células zimógenas. Secretan pepsinógeno, transformadas en pepsina por el ácido clorhídrico. (Dockray, 1999; Eurell y Frappier, 2006; Washabau and Day, 2013).
- Células parietales, más grandes y menos numerosas. La membrana celular presenta un canalículo. Existen numerosas microvellosidades con tamaños distintos, que proyectan este canalículo y proporcionan una amplia superficie de transporte para el ácido clorhídrico libre (Barker, 1993; Eurell y Frappier, 2006; Washabau y Day, 2013).

- Células endocrinas (células entero-endocrinas), penetran en el lumen intestinal controlando el contenido luminal y su respuesta a liberar hormonas gastrointestinales, como gastrina, secretina, colecistoquinina, o somatostatina (Barker, 1993; Dockray, 1999; Washabau y Day, 2013, Ceranowicz, 2015). Son difíciles de identificar con gran afinidad por la tinción de plata o con dicromato de potasio denominándose células argentafines o entero-cromafines (Schofield, 1958; Dockray, 1999; Eurell y Frappier, 2006; Liddle, 2019).

4) Región de la glándula pilórica

Formada por células secretora de mucus, con núcleos aplanados en la base de la célula y citoplasma débilmente teñido (Barker, 1993). Son cortas, ramificadas y tubulares, y se extienden por la porción distal del estómago, incluye antro-pilórico hasta la curvatura menor.

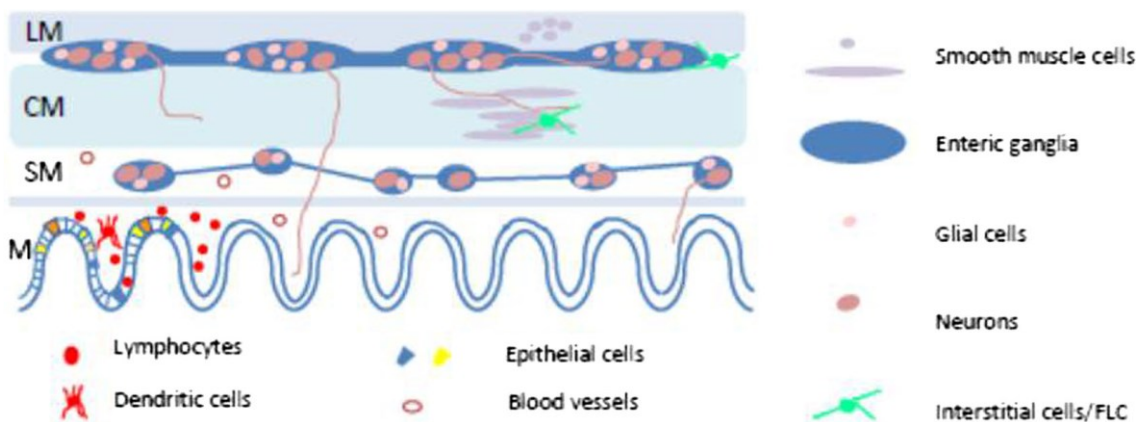


Fig.1: Diagrama esquemático simplificado mostrando las principales capas de tejido y tipos celulares del tracto gastrointestinal LM, músculo longitudinal, CM, músculo circular, SM Submucosa, M Mucosa (Saffrey, 2014)

3.2.3. FUNCIONES Y REGULACIÓN DEL ESTÓMAGO

El estómago regula el tamaño y proporción de ingesta que entra en el intestino delgado, e inicia la digestión de proteínas y grasas (Day y Washabau, 2013). Metaboliza la secreción ácida mediante la regulación de la estimulación neuroquímica y neuro-humoral, a través de las células parietales secretoras de H⁺ protones y factores intrínsecos, como son:

- A) Factores endocrinos (gastrina) por medio de células G, que producen ácido directamente del calcio, aminoácidos y péptidos de la ingesta.
- B) Factores neuroendocrinos (acetilcolina) liberados mediante neuronas postganglionares parasimpáticas, mediante distensión de iones de calcio y acción del vago.
- C) Factores paracrinos (histamina) derivado de mastocitos en lámina propia y células entero-endocrinas locales que segregan ácido (Barker y Van Dreumel, 1993; Day y Washabau, 2013).

La barrera mucosa, es un término descrito por Cummings y cols. en 2004 y Bischoff y cols, en 2014 que evita lesiones en el estómago debido al ácido gástrico, y el moco rico en bicarbonato que protege como tampón a las células epiteliales (Turner, 2009). Este bicarbonato secretado

por las células mucosas es estimulado por la secreción de prostaglandinas (PGE₂) y ejercen un efecto inhibitor de estimulación ácida de las células parietales (Barker y Van Dreumel, 1993).

3.2.4. CLASIFICACIÓN HISTOLÓGICA DE LAS ENFERMEDADES GÁSTRICAS.

El carácter histológico de la lesión define la clasificación de enfermedad gástrica (Wilcock, Washabau y Day, 2013), fundamentalmente cualquier patología tiene que ver con la barrera mucosa y particularmente con su función protectora frente a la erosión o ulceración (Hollander, 1954), así tenemos una clasificación conceptuada por Wilcock en Day y Wasabau, 2013, y que se divide en:

- Ulceración gástrica.
- Atrofia mucosa y fibrosis.
- Inflamación mucosa y sus consecuencias.
- Enfermedades proliferativas que incluyen neoplasias.

3.2.4.1. ULCERACIÓN GÁSTRICA

La pared gástrica es muy sensible a sustancias nocivas que actúan contra su integridad provocando alteraciones de la pared. Estas alteraciones provocan la formación de úlceras que se cierran o curan al cabo de horas, produciendo aplanamiento de células próximas al epitelio junto con renovación de las células mucosas. Existe una intensa actividad mitótica en la base foveolar de las células, observándose regeneración epitelial formada por basofilia y aplanamiento celular con reorientación del núcleo y escaso moco (Day y Washabau, 2013).

Se producen procesos ulcerativos, en tumores de células mastocíticas, en procesos accidentales de ingestión química y aquellos producidos por ingestión de antiinflamatorios esteroideos y no esteroideos (Day y Washabau, 2013).

3.2.4.2. NECROSIS GÁSTRICA DISTINTA A LA ULCERACIÓN

1) Estos procesos están asociadas a uremias gástricas, a isquemia mucosa secundaria a enfermedad que cursa con signos de hematemesis y melena en perros con enfermedad renal crónica, y que provoca congestión de la mucosa causando hipertensión portal y shock en perros (Barker y Van Dreumel, 1993; Washabau y Day, 2013).

En la lámina propia se observa edema y atrofia de las glándulas gástricas y de la submucosa donde se puede observar arteriopatía, degranulación de células mastocíticas en las regiones foveolares (Cheville, 1979), acumulo de depósitos minerales en los vasos sanguíneos y mineralización de las glándulas, fibras colágenas y músculo liso degenerativo (Cheville, 1979; Barker y Van Dreumel, 1993; Washabau y Day, 2013).

3.2.4.3. FIBROSIS MUCOSA GÁSTRICA Y ATROFIA

La fibrosis se analiza como un marcador previo inflamatorio que puede modificarse conforme a la edad. En las glándulas no hay fibrosis, salvo en las foveolas, que separan las glándulas de la muscular. En lámina propia de antro pilórico existe mayor fibrosis, por lo que un diagnóstico de fibrosis mucosa en píloro no es fiable (Washabau y Day, 2013).

En la gastritis crónica de perros y gatos es normal ver fibrosis junto a redes glandulares sin evidenciar inflamación activa o historia clínica de enfermedad gástrica. La combinación de atrofia glandular, reparación displásica y metaplasia mucosa intestinal es un factor de riesgo en la progresión de carcinoma en humanos, pero no ha sido probada en perros. (Washabau y Day, 2013).

3.2.4.4.- GASTRITIS

La particularidad de la gastritis es que no existe uniformidad en su criterio diagnóstico, se observa aumento de leucocitos con inflamación donde hay hiperemia, edema y lesión adyacente de los componentes de la mucosa (lesión epitelial o fibrosis reparativa).

No se conoce exactamente el rango normal de leucocitos en lámina propia, lo que no permite afirmar cuando existe verdadera inflamación del tejido. Si se observa nódulos linfáticos con aumento de linfocitos o células plasmáticas, se asume como respuesta a estimulación antigénica. La distinción entre proliferación linfoide patológica o adaptativa reside no solo en su número sino también en el fenotipo y la producción de citoquinas (Washabau y Day, 2013).

3.2.4.4.1.- Gastritis aguda:

Es una inflamación de la mucosa gástrica con vómitos repentinos. El diagnóstico no se hace por biopsia sino basado en los hallazgos clínicos y la respuesta sintomática al tratamiento. Los animales con gastritis aguda asociada con hematemesis, melena, diarrea concurrente u otros signos de enfermedad sistémica requiere un diagnóstico para determinar la causa y proveer del cuidado óptimo (Washabau y Day, 2013).

3.2.4.4.2.- Gastritis crónica:

Este tipo de gastritis viene categorizada según el infiltrado celular predominante (eosinofílico, linfocítico, plasmático, granulomatoso, o folicular linfoide), presencia de anormalidades arquitectónicas o estructurales (atrofia, hipertrofia, fibrosis, edema, ulceración, metaplasia) y su severidad subjetiva (media, moderada, severa). La gastritis en perro y gato suelen presentar una severidad media a moderada, e infiltrado linfoplasmocítico superficial con o sin hiperplasia linfoide (Washabau y Day, 2013).

En ausencia de enfermedad sistémica, fármacos ulcerogénicos o cuerpos extraños irritantes, parásitos (*Physaloptera* y *Ollulanus spp*) y en enfermedades infecciosas fúngicas (*Pythium insidiosum*, *Histoplasma sp*), la gastritis crónica se atribuye a intolerancia en la dieta o alergia, parásitos ocultos, o infección por patógenos desconocidos.

Los perros con gastritis linfoplasmocitaria o etiología no determinada muestran una correlación entre la expresión de citoquinas inmunomoduladoras IL-10 y citoquinas proinflamatorias (IFN-gamma, IL-1B, IL-8). Hay que destacar que las células intraepiteliales solo producen IL-8 cuando son confrontadas con cepas de salmonella, atrayendo neutrófilos al sitio de infección, lo cual puede contribuir a la exacerbación del medio inflamatorio (Coombes y Powrie, 2008).

Diagnóstico:

Para su diagnóstico se utilizan diferentes técnicas de imagen en las que se incluyen las radiografías gastrointestinales, que son normales en perros y gatos con gastritis, aunque pueden mostrar un vaciado gástrico anormal o distensión (se observa retención durante más de 12 horas después de una comida). La radiografía de contraste puede revelar úlceras o engrosamiento de la pared gástrica, pero se puede combinar con ultrasonografía. Esta última permite detectar anomalías del grosor de la pared. Entre otras técnicas más específicas, destaca la utilización de endoscopia para localizar y obtener muestras de la mucosa gástrica. Además, la endoscopia permite observar erosión, ulceración hemorrágica, cuerpos extraños, engrosamientos de la pared e hiperplasia folicular linfoide (Matsuo y col., 1997; McGuckin y col., 2009).

3.2.4.4.3.-GASTRITIS CRÓNICA DE ETIOLOGÍA DESCONOCIDA

La gastritis linfoplasmocítica, de causa desconocida es normal en perros y gatos. Está asociada al mismo infiltrado celular que tiene lugar en intestino sobre todo en gatos. El infiltrado celular varía en severidad y puede estar acompañado de atrofia mucosa o fibrosa, y en menor medida de hiperplasia. (Day y Washabau, 2013).

3.2.5.-NEOPLASIAS GÁSTRICAS

Las neoplasias gástricas no son frecuentes, destacando:

i) Adenocarcinoma de estómago: en perros comprende a la mayoría de neoplasias gástricas encontradas en esta especie, Afecta normalmente a la región pilórica, aparece como engrosamiento que puede ser ulcerante. Al microscopio podemos observar dos formas, una difusa con infiltrado variable de células neoplásicas, donde algunas de ellas adoptan la forma de anillo en sello (Barker y Van Dreumel, 1993; Linden, 2008).

ii) Carcinoma de células escamosas: ha sido descrito en la mucosa glandular de píloro en perro. Los carcinomas gástricos tienen un comportamiento muy agresivo, metastatizándose a nódulos linfáticos locales y a otros órganos distantes, particularmente pulmón, hígado y adrenales. (Jubb y col., 1985)

iii) Pólipos adenomatosos benignos: pudiendo ser origen de obstrucción o secuela de hiperplasia o artritis crónica. Estas lesiones aparecen adoptando formas nodulares, pedunculares, o masas polipoides.

iv) Tumores mesenquimales: menos común que los adenocarcinomas. La mayoría son leiomiomas, que producen nódulos y masas que convergen dentro de lumen gástrico o protruyen desde la serosa. En perros encontramos leiomiosarcomas, linfosarcomas, y sarcomas anaplásicos. (Jubb y col, 1985).

Enfermedades del Estómago, signos clínicos y características predominantes (Ettinger y Feldman, 2007)

| SINDROME CLÍNICO | CARACTERÍSTICAS PREDOMINANTES |
|------------------------------------|---|
| Gastritis aguda | Inicio repentino de vómitos |
| Ulceración o erosión | Vómitos, hematemesis, melena, anemia |
| Dilatación vólvulo gástrica | Náusea no productiva, distensión, abdominal, taquicardia |
| Gastritis crónica | Vómitos crónicos de alimentos o bilis |
| Vaciado gástrico retrasado | Vómito agudo a crónico más de 8 a 10 h. retrasado después de alimentarse |
| Neoplasia | Vómitos crónicos, pérdida de peso |

3.3.- INTESTINO

3.3.1.-INTESTINO DELGADO

El intestino digiere y absorbe los nutrientes, supervisa la microflora comensal y los patógenos potenciales (Marsilio y cols. 2010).

DUODENO

Se trata de la primera parte del intestino delgado, comprende alrededor de un 10% del total de su longitud (Day and Washabau, 2013). En carnívoros, presenta una porción craneal muy tortuosa que se proyecta de izquierda a derecha por la cara visceral de hígado. Su flexura craneal determina el cambio posicional de dirección del órgano que se proyecta en una porción descendente muy corta en carnívoro (Sandoval, 1975).

En la porción craneal del mismo se encuentra la ampolla duodenal donde se observa la desembocadura del conducto colédoco. En gato a diferencia del perro, los conductos colédoco y pancreático, se abren juntos a la túnica mucosa, por medio de la ampolla hepatopancreática, compuesta de dos pliegues mucosos que se obliteran para evitar el reflujo de contenido duodenal a lo largo de cada uno de dichos conductos (Sandoval, 1975).

La porción ascendente camina próxima al plano medio del abdomen, finalizando en la flexura duodeno-yeyunal. El ligamento hepatoduodenal que diferencia el mesogastrio ventral suspende desde la porta y cara visceral adyacente del hígado a la porción craneal del duodeno continuando caudalmente en el meso-duodeno prolongado hacia porción descendente del órgano desde el lóbulo derecho del hígado (Sandoval, 1975).

La mucosa del órgano está formada por vellosidades duodenales finas y largas. En la submucosa del duodeno se localizan glándulas confinadas en los carnívoros hacia el píloro y coexistiendo con aquellas glándulas estudiadas por toda la mucosa del órgano (Sandoval, 1975). Su túnica muscular presenta fibras circulares que se observan en la confluencia de los conductos colédoco y pancreático, constituyendo el músculo esfínter de la ampolla hepatopancreática, que rodea la ampolla en gato, y la parte terminal de ambos conductos en perro (Sandoval, 1975). La túnica serosa que envuelve el órgano continúa dorsalmente con los ligamentos meso-suspendores y fijadores del órgano. Así en carnívoros algunas partes del meso-duodeno diferencian fibras contráctiles en su espesor, cuyo tono o contracción regulan plexos nerviosos autónomos parasimpáticos (Sandoval, 1975).

YEYUNO

El yeyuno está ubicado en el medio del intestino delgado y forma la mayoría del intestino delgado. El órgano se encuentra suspendido en medio de la cavidad peritoneal por el mesenterio dorsal, que porta la conexión vascular, nerviosa y linfática entre intestino delgado y resto del cuerpo (Day y Washabau, 2013).

El yeyuno se inicia en la flexura duodeno-yeyunal continuando hacia la derecha hasta alcanzar la unión cecocólica en la cara medial de la base del ciego donde desemboca, (Sandoval, 1975). Su mesenterio, ancho y largo, forma la raíz mesentérica craneal en la pared abdominal dorsal. Ocupa el espacio existente entre el estómago y el hígado a un lado y la entrada de la pelvis en el otro. El yeyuno que tiene seis o siete asas (Sisson,1985), se encuentran agrupadas retro - gástricamente sobre las paredes ventrolaterales del abdomen, donde quedan separadas por el omento mayor que las engloba casi por completo (Sandoval, 1975).

ÍLEON

El íleon es la última porción del intestino delgado. En su transición con el yeyuno encontramos las placas de Peyer, adyacentes al ligamento íleo-cólico (Larson, 2009; Day y Washabau, 2013). El íleon finaliza en la válvula ileocecal desembocando al colon a través de la abertura ileocecal.

La unión cecocólica controla el tránsito intestinal mediante el esfínter de la válvula ileocecal y la actividad motora propia de esta válvula (Casamian-Sorrosal y col, 2010 Folaranmi y cols., 2011; Fernández y cols., 2017). Se ha descubierto en mucosa iliaca, receptores para la somatostatina SSTR2, estando disminuido su número en pacientes humanos con enfermedad inflamatoria intestinal (Tertychnyi, 2016; Caruso, 2018).

3.3.2.-INTESTINO GRUESO

Su calibre es el mismo que el del intestino delgado, y no presenta sáculos ni bandas longitudinales (Sisson, 1985). Las dimensiones del intestino grueso son cortas y con escasa diferenciación funcional (Sandoval,1975), comenzando en la unión íleo-cólica hasta terminar en el ano (Steiner, 2008).

El intestino grueso está compuesto del ciego, el colon, y el recto que desemboca en el canal anal. Esta parte del tubo digestivo se encarga de la acción microbiana en la ingesta, absorción de agua, vitaminas y electrolitos y también de la secreción de mucus. Este mucus puede disminuir la fricción entre la capa mucosa y las heces, (Matsuo y col. 1997, Linden,2008; Kaser y Blumberg, 2011). Muchas de las funciones del intestino tienen que ver con la necesidad de la ruptura de celulosa, sin embargo, es muy difícil diferenciar histológicamente cada una de las partes en que se diferencia el intestino grueso. Las características comunes de los tres segmentos son:

- Carencia de vellosidades
- Glándulas tubulares simples, menos enrolladas y con muchas células globulares que segregan mucina para prevenir contacto con bacterias (Turner, 2009).
- Ausencia de gránulos acidófilos (células de paneth)
- Aumento en el número de nódulos linfáticos.

CIEGO

El ciego mide de 12,5 a 15 cm de longitud. Las flexuras están mantenidas por el peritoneo. Se encuentra localizado entre el flanco derecho y el plano medio, ventral al duodeno y a la parte derecha del páncreas. El extremo craneal se abre en el origen del colon, lateral al orificio íleo-cólico. El otro extremo es puntiagudo y ciego. En el gato es extremadamente pequeño con forma de coma ortográfica; en perro parece como un sacacorchos. La mucosa del ciego contiene numerosos nódulos linfáticos circulares, con una depresión central (Sisson, 1985).

El ciego en carnívoros es pequeño, con presencia de nódulos linfáticos dispersos por toda su longitud, los cuales son especialmente numerosos alrededor del ostium ileal (la abertura del íleon dentro del ciego o colon) en perros, sin embargo, en gato están concentrados cerca del ápex del ciego (Sisson, 1985).

COLON

El colon está unido a la región sublumbar mediante un mesenterio cuyo origen ocupa el lado izquierdo del mesenterio común (Sisson, 1985). Se divide en tres partes (Steiner y col, 2008):

a) Colon ascendente, es el más corto y comienza en la base del ciego, a nivel de la segunda vértebra lumbar (Sandoval, 1975), para continuar a lo largo de la superficie medial de la parte craneal y lóbulo derecho del páncreas, alcanzando la porción pilórica de estómago y girando hacia la izquierda hasta cruzar el plano medio dando lugar al siguiente tramo.

b) Colon transversal que cruza la cavidad abdominal de derecha a izquierda para continuarse como colon descendente.

c) Colon descendente que se desplaza en sentido caudal hasta la región sublumbar, a lo largo del borde medial o superficie ventral del riñón izquierdo; desde aquí se desvía hasta el plano medio y conecta con el recto (Sisson, 1985).

Durante su recorrido diferencia una serie de codos o flexuras (Sandoval, 1975; Sisson, 1985), la flexura hepática o cólica derecha, la cual separa el colon ascendente y transversal; la flexura esplénica o cólica izquierda que separa el colon transversal y del colon descendente, cada una de las partes en que se divide el colon poseen una actividad y cualidades ligeramente distintas (Day y Washabau, 2013).

El suministro sanguíneo viene dado por las arterias mesentéricas craneales y caudales y el retorno venoso se realiza a través de la vena porta que recibe la sangre de las venas mesentéricas craneales y caudales (Day y Washabau, 2013).

La mucosa del colon es más gruesa que aquella del intestino delgado debido a las mayores dimensiones y número de las glándulas y células globulares.

RECTO

Es la continuación caudal del colon descendente hacia la cavidad pelviana, y va desde el hueso sacro hasta las primeras vértebras caudales. En el perro se agranda en su tercio medio formando la ampolla rectal, la cual permite almacenar y reabsorber el agua de las heces, luego el recto se angosta paulatinamente, finalizando en el canal anal que se comunica con el exterior por medio de un esfínter o ano. (Sandoval, 1975; Sisson, 1985).

La túnica mucosa del recto y del canal anal tiene pliegues transversales gruesos muy abundantes, por lo que las heces experimentan una intensa reabsorción de agua. La mucosa del canal anal está formada por pliegues longitudinales prolongados desde la línea anorrectal hasta la línea ano-cutánea de tránsito con la piel. Destacan entre las columnas de ano, los senos anales que contienen ganglios linfáticos y se despliegan glándulas anales incorporándose a la zona columnar del ano. A partir de la línea ano-cutánea sobresale la zona cutánea del canal anal, aumentada en el perro por el interior del orificio anal; todos los carnívoros albergan dicha zona, donde existen grandes glándulas circumanales y a cada lado una bolsa o seno paranal que contiene una masa gris pegajosa de olor muy desagradable en animales púberes. Las glándulas paranales quedan ocultas por los músculos esfínter externo y elevador de ano. (Sandoval, 1975).

La irrigación sanguínea del recto procede de las ramas viscerales de la aorta abdominal, la arteria mesentérica caudal o de la arteria rectal craneal ramificada en la pared dorsal del recto. El gran tronco de la arteria ilíaca interna termina dividiéndose en arteria glútea caudal y pudenda interna, que camina paralela al nervio pudendo, y termina en la arteria perineal ventral que da lugar a la arteria rectal caudal que riega el canal anal (Sandoval, 1975). Las venas del recto drenan principalmente hacia la vena ilíaca interna, afluyente de la cava caudal (Sandoval, 1975).

La mucosa del recto es similar al ciego y colon excepto por sus células globulares. En carnívoros, la capa longitudinal externa de la túnica muscular es gruesa. La porción craneal del recto está cubierta por serosa, mientras que la porción caudal está rodeada por adventicia, que se mezcla con fascia pélvica (Sandoval, 1975).

3.4.-PATOLOGIA INTESTINAL

3.4.1.-PATOLOGÍAS DE INTESTINO DELGADO

La disfunción intestinal viene acompañada de signos clínicos como diarrea, vómitos, deshidratación, pérdida de peso y letargia (Jergens, 2003; García-Sancho, 2007; Jergens y Simpson, 2012). La diarrea localizada en intestino delgado puede tener un ligero incremento en la frecuencia de defecación, con gran volumen de heces y presencia de melenas. La etiología principal de la diarrea es la presencia de parásitos tanto en perros como gatos de agentes infecciosos como bacterias, virus y hongos, o también procesos anómalos en la dieta (Ettinger y Feldman, 2007; Washabau y Day, 2013).

3.4.1.1.-ENTERITIS LINFOPLASMOCITARIAS

La enteritis linfoplasmocitaria (ELP) es la forma más habitual de Enfermedad inflamatoria intestinal idiopática (Jergens y cols., 1992; Tams, 1993; Hart, 1994). Este proceso se caracteriza por un infiltrado de la mucosa por linfocitos y células plasmáticas (Jacobs, 1990). Hay otras etiologías de infiltración linfoplasmocitaria en intestino delgado, como pueden ser aquellas producidas por patógenos entéricos. Todas estas deben excluirse antes de confirmarse un diagnóstico de enteritis linfoplasmocitaria idiopática. (Ettinger y Feldman, 2007).

PATOGENIA

La enteritis linfoplasmocitaria refleja un desequilibrio inmunitario, y su gravedad varía desde una infiltración leve a intensa. Se observan diferentes poblaciones celulares donde predomina un aumento de las células T (especialmente CD4+) en la lámina propia, células plasmáticas IgG+, macrófagos y granulocitos (German y cols., 2001). Considerando que las células regulatorias de linfocitos T tienen un papel importante en la inmunotolerancia de las mucosas y que éste puede ser útil en la evolución de la enfermedad, se necesita la evaluación de los linfocitos T para determinar la homeostasis intestinal (Maeda y cols., 2016; Heilmann y Steiner, 2018). Por otro lado, la mayoría de linfocitos intraepiteliales son células T que expresan CD3, y en menor medida CD5. Los linfocitos intraepiteliales de felinos expresan CD4, CD8 y complejo mayor de histocompatibilidad clase II (Roccabianca, 2000). Los enterocitos de felinos normales carecen de expresión de clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (Waly y cols., 2004), existiendo un mayor número de células presentadoras de antígeno expresando antígenos de clase II del complejo mayor de histocompatibilidad en gatos con EII. Todo esto apoya el valor de este marcador en la caracterización de la enfermedad en gatos (Waly y cols. 2004).

Los recuentos de linfocitos intraepiteliales que se hacen en gato son mayores que en otras especies incluyendo perro, cerdo y hombre, lo que implica un hallazgo de relevancia en la diferenciación de la EII entre las especies y sugiere que realizan una función única de inmunovigilancia de la barrera mucosa (Roccabianca, 2000).

Los signos clínicos incluyen diarrea y pérdida de peso, pero éstos no son patognomónicos. Los vómitos crónicos pueden ser el signo predominante, especialmente en gatos (Ettinger y Feldman, 2007, Washabau y cols., 2010). La ELP está más extendida entre pastores alemanes y Shar Peis donde pueden causar enteropatías por pérdida de proteínas. La ELP afecta a animales de mayor edad y es rara en los individuos jóvenes (German y cols., 2000; Ettinger y Feldman, 2007; Omori y cols., 2017).

DIAGNÓSTICO DE ENTEROPATÍA LINFOPLASMOCITARIA

El diagnóstico definitivo depende de los cambios histológicos caracterizados por el aumento del número de linfocitos y células plasmáticas junto con alteraciones estructurales. Puede haber atrofia completa o parcial de las vellosidades, y en casos más graves fusión de las vellosidades y presencia de abscesos en criptas (Baez y cols., 1999; Hart y cols., 1994; Day y cols., 2008; Jergens y cols., 2014). Este proceso puede dar lugar a discrepancias entre biopsias endoscópicas y examen postmortem del mismo paciente. (Ettinger y Feldman, 2007; Willard y cols., 2008 y 2010; Washabau y cols., 2010; Washabau y Day, 2013).

Es importante destacar que la inflamación intestinal prolongada puede convertirse en linfoma, y que incluso al principio no se diagnostique un linfoma porque éste se encuentra poco desarrollado. De esta manera, esta distinción se hace más difícil entre casos de enteritis linfoplasmocítica severa (LPE) y linfoma de grado bajo alimentario (LGAL) debido a características microscópicas superpuestas (Waly y cols., 2004, Waly y cols., 2005; Allenspach, 2007; Washabau, y cols. 2010; Briscoe y cols., 2011; Craven y Washabau, 2019).

3.4.1.2.-ENTEROPATÍA DE BASENJI

Se han descrito en estas razas una forma hereditaria de enteropatía por pérdida de proteínas (Simpson y Jergens, 2011). Los animales afectados presentan hiperglobulinemia, y cierta predisposición al linfoma. Las lesiones intestinales están caracterizadas por células T CD4+ y CD8+. (Breitschwerdt y cols., 1980, 1982; Ettinger y Feldman, 2007).

SIGNOS CLÍNICOS

Están caracterizados por diarrea crónica y emaciación, con pérdida de peso y signos neurológicos (Breitschewerdt, 1980). Se produce una hipoalbuminemia, pero el edema y la ascitis no son habituales. Los signos clínicos no son progresivos y pueden dar lugar a una perforación intestinal espontánea. La patogénesis del desorden gastrointestinal de los perros Basenji se desconoce, pero se relaciona con factores medioambientales y genéticos (MacLachlan, 1988; Ettinger y Feldman, 2007).

DIAGNÓSTICO

Depende del examen histopatológico de las muestras de biopsia (Ettinger y Feldman, 2007).

3.4.1.3.-ENTERITIS EOSINOFÍLICA

La enteritis eosinofílica está encuadrada dentro del término acuñado en 1968, como “síndrome hipereosinofílico” (Hendrick, 1981). Esta enteritis es la segunda forma más habitual de Enfermedad Inflamatoria Intestinal (Junginger y cols., 2014). También se puede ver afectado el estómago o el colon. Se observan distorsiones de la arquitectura de la mucosa (p.ej. atrofia de las vellosidades) junto con infiltrado mixto de células inflamatorias en las que predominan eosinófilos (Ettinger, Feldman, 2007; Simpson y Jergens, 2011; Washabau y Day, 2013).

Los criterios diagnósticos aplican criterios estrictos y se observa un predominio de eosinófilos en la lámina propia (German y cols., 2001), mucho más en la cripta que en la vellosidad (Day, 2008). También se incluye la presencia de eosinófilos entre las células epiteliales de las vellosidades y las criptas, lo que indica migración transepitelial. El número de eosinófilos de la mucosa puede variar mucho en perros normales y por tanto esta alteración puede diagnosticarse en exceso. Como en las otras formas de enfermedad inflamatoria intestinal, el diagnóstico de enteritis eosinofílica debe hacerse sólo después de haber eliminado otras causas de infiltración eosinofílica. (Ettinger y Feldman, 2007; Washabau y Day, 2013).

PATOGENIA

Es probable que la infiltración eosinofílica sea el resultado de la producción local y sistémica de citoquinas y quimiocinas, como la IL-5, y de miembros de la familia de las eotaxinas (Sattasathuchana y Steiner, 2014). Estos mediadores pueden producirlos el subconjunto Th2 de células T CD4+. (Bochner y Schleimer, 2001; Ridyard y cols., 2002; Ettinger, Feldman, 2007).

DIAGNOSTICO

Se hace mediante el examen histológico de las biopsias intestinales después de excluir parásitos y alergia alimentaria. La eosinofilia periférica no está siempre presente ni es patognomónica porque también puede observarse en caso de parasitismo, insuficiencia corticosuprarrenal, enfermedad cutánea alérgica o respiratoria y mastocitomas. En animales, la infiltración eosinofílica ha sido observado en linfomas de células T y en tumores de células mastocíticas de origen intestinal, por lo que se necesitan ser considerados en el diagnostico diferencial (Teske y cols., 1994; Fournel-Fleury y cols., 2002; Ozaki y cols. 2006; Ettinger y Feldman, 2007; Sayag y cols., 2018; Harris y cols.,2019).

3.4.1.4.-ENTERITIS GRANULOMATOSA

La enteritis granulomatosa es una forma rara de Enfermedad inflamatoria intestinal, caracterizada por infiltrado de la mucosa con macrófagos, por lo que se forman granulomas. La distribución de la enfermedad es la misma que la enteritis regional en la que se observa granulomas ileales (Bright y cols., 1994) La enteritis granulomatosa tiene algunas características histológicas en común con la enfermedad de Crohn humana, pero no hay obstrucción, ni se forman abscesos, ni fístulas. El tratamiento convencional no es eficaz y el pronóstico es reservado. Se observa inflamación transmural pio-granulomatosa en gatos asociado a infección por el virus de la peritonitis infecciosa felina. (Ettinger y Feldman 2007; Simpson y Jergens, 2011).

3.4.1.5.-ENTERITIS PROLIFERATIVA

Caracterizada por hipertrofia segmentaria de la mucosa del intestino. En los perros se ha observado una etiología infecciosa subyacente relacionada con *Lawsonia intracellularis*, (Westermarck y cols., 2005; Klimes y cols.2007).

3.4.1.6.-LINFANGIECTASIA

DEFINICIÓN Y ETIOLOGÍA

Los vasos linfáticos permiten que fluya la linfa condicionada a las contracciones de la fibra muscular lisa. Los conductos linfáticos que van paralelos al sistema venoso, se dividen en capilares linfáticos (donde entra el fluido intersticial), los vasos premodales y postmodales, y los vasos recolectores que drenan al conducto torácico por medio del nódulo linfático regional, antes de unirse a la confluencia de los grandes sistemas venosos especializados (Schmid-Schönbein, 1990).

Morfopatología y abnormalidades

La linfangiectasia es una causa importante de enteropatía por pérdida de proteínas en el perro (Suter y cols., 1985; Sutherland-Smith y cols., 2007; Rossi y cols., 2015; Craven y Washabau, 2018). Se define como una enfermedad adquirida mediante la obstrucción de flujo linfático en el conducto lacteal, vasos linfáticos mesentéricos o nódulos (Melzer y Selon, 2002; Louvet y Denis, 2004; Sutherland-Smith y cols., 2007; Craven,Washabau, 2019). La dilatación es más

marcada en los conductos linfáticos intestinales de la mucosa, submucosa y serosa, pero más severamente en las vellosidades. Los vasos linfáticos anormales vierten linfa, rica en proteínas en la luz intestinal, produciendo una enteritis por pérdida de proteínas e hipoproteinemia. (Batt y col., 1989, Willard y col., 2000). Además, se pueden observar reacciones inflamatorias alrededor de vasos linfáticos compuesta de linfocitos y células plasmáticas (Van Kruiningen y cols, 1984, Suter y col, 1985; German, 2003; Sura y cols., 2011; Rossi, 2015; Craven y Washabau, 2019).

La mayor causa de enteropatía por pérdida de proteínas en perros adultos es la linfangiectasia intestinal, el linfoma del tracto alimentario, las infecciones fúngicas (histoplasmosis y pitiosis) y la enfermedad inflamatoria intestinal, mientras que en animales jóvenes son los parásitos y la intususcepción crónica (Willard, 2015). La linfangiectasia puede estar localizada en cualquiera de los segmentos intestinales, pero puede ser más obvio en íleon (Burke 2013; Willard, 2015).

La linfangiectasia se puede dividir en linfangiectasia primaria y linfangiectasia secundaria (Ettinger y Feldman, 2007):

a) Linfangiectasia primaria: Se observa una dilatación gruesa de los conductos lácteos dilatados que rompen y diseminan fluido rico en proteínas hacia lumen e intersticio, esta linfa es un irritante local en los tejidos que podría causar la formación de granulomas (Craven y Washabau, 2019). Se observa en razas terrier pequeñas indicando predisposición genética (Ettinger y Feldman, 2007; Peterson y Willard, 2003; Simmerson y cols. 2014; Wennogle y col. 2019).

b) Linfangiectasia secundaria: Ocurre por causas subyacentes de obstrucción linfática intestinal entre las que se incluyen:

- 1) Obstrucción de los vasos linfáticos por un proceso inflamatorio, fibroso o neoplásico.
- 2) Obstrucción del conducto torácico.
- 3) Insuficiencia cardíaca congestiva derecha o taponamiento cardíaco.

En ocasiones se observa linfangitis lipogranulomatosa junto con linfangiectasia pero no está claro cuál es el proceso primario en perros (Meschter y cols., 1987; Sutherland-Smith y cols., 2006; Kleinschmidt y cols. 2010).

SIGNOS CLÍNICOS

Puede aparecer hipoproteinemia sin diarrea. La diarrea, esteatorrea, pérdida de peso y polifagia son típicas, aunque en ocasiones se observa presencia de vómitos, letargo y anorexia. Algunos autores sugieren ascitis, edema e hidrotórax con anormalidad severa de mucosa intestinal e hipoalbuminemia (Rossi y col., 2015)

DIAGNÓSTICO

En la linfangiectasia se observa hipocalcemia e hipomagnesemia (Kimmel y cols., 2000; Melzer y Sellon, 2002). Algunos animales presentan hipoparatiroidismo (Bush y cols., 2001; Craven y Washabau, 2019). La ecografía abdominal puede detectar los conductos lácteos dilatados como manchas y estrías hiperecoicas (Sutherland-Smith, 2007), aunque las enfermedades inflamatorias gastrointestinales se diagnostican mejor con biopsias tomadas durante la endoscopia o laparatomía (Larson y col, 2009). Las biopsias endoscópicas apoyan el diagnóstico, pero puede ser necesaria una biopsia de todo el grosor para obtener un diagnóstico definitivo

(Willard y cols., 2008). La endoscopia tiene la ventaja de permitir visualizar en la serosa las lesiones que no son visibles (Willard, 2015).

Se puede realizar un diagnóstico tentativo de linfangiectasia basándose en hallazgos endoscópicos claramente visibles (presencia de numerosos conductos lácteos erráticos que se ven como grandes ampollas blancas en la mucosa). A veces se puede diagnosticar linfangiectasia eliminando todas las demás causas (p.ej EII, linfoma, parásitos, intususcepción, infecciones por hongos, úlceras) (Willard, 2015)

Al realizar laparatomía exploratoria los perros muestran anomalías macroscópicas como engrosamiento de la pared intestinal, dilatación de los vasos linfáticos (en el mesenterio y la serosa intestinal), y adherencias. Los ganglios linfáticos mesentéricos también pueden estar aumentados y se observan tumores nodulares de color amarillo o blanco en y alrededor de los vasos linfáticos mesentéricos. Los nódulos son lipogranulomas con acumulación de macrófagos cargados de lípidos y que son resultado de extravasación perilinfática de quilo o están asociados a linfangitis. (Ettinger y Feldman, 2007).

Hay que diferenciar la linfangiectasia de la dilatación postprandial de los vasos quilíferos y de la dilatación de los vasos quilíferos secundaria que se observa en otras enteropatías (Ettinger y Feldman 2007), por lo que convendría medir altura y anchura de la vellosidad y de los conductos quilosos, y sus proporciones (Rossi, 2015).

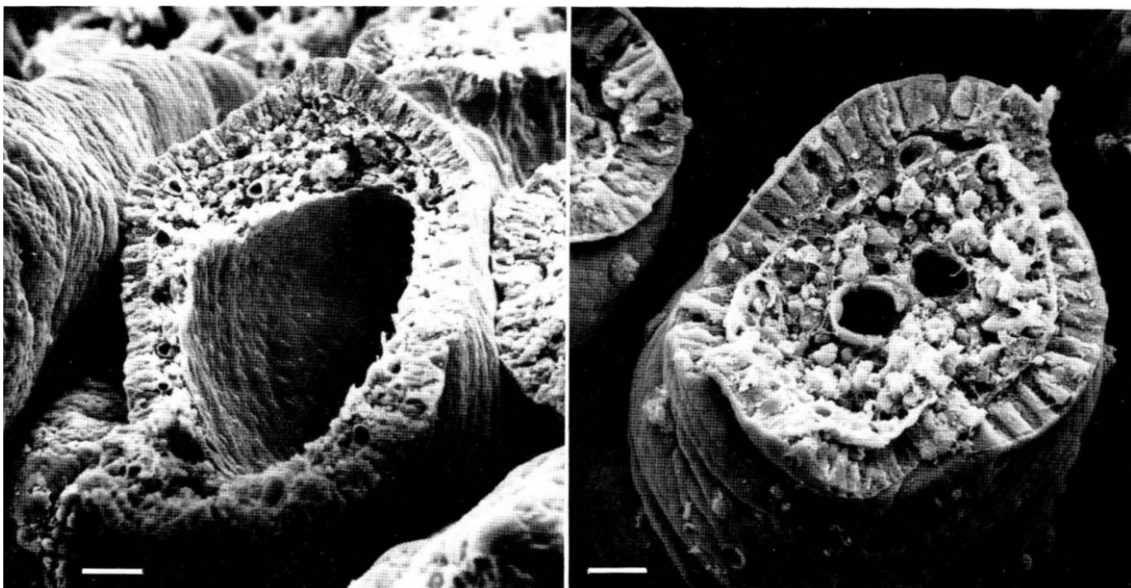


Figura 2. Micrografía de microscopio de electrón de vellosidad fracturada accidentalmente, con marcada dilatación del conducto linfático central (Sutter MM y col, 1985).

3.4.1.7.-ENTEROPATÍAS CON PÉRDIDA DE PROTEÍNAS

El síndrome de pérdida de proteínas se caracteriza por excesiva pérdida de proteínas dentro del lumen intestinal (Allenspach, 2007; Salavati Schmitz y cols., 2019). Esta pérdida puede ser originada por un aumento de la permeabilidad de la mucosa secundaria a daño celular, pérdida de las células, erosión mucosa, ulceración o drenaje linfático alterado. (Craven y Washabau, 2019).

La hipoproteinemia aparece cuando el exceso de proteínas perdidas exceden la síntesis de las mismas proteínas. Pan-hipoproteinemia en un animal con evidencia clínica de enfermedad típica este síndrome (Allenspach, 2007). Sin embargo, animales con EPP (PLE) (enteropatías con pérdida de proteínas) pueden tener frecuencia de defecación normal y consistencia en heces. Un diagnóstico lo más temprano posible junto con un tratamiento para esta enfermedad es importante pues animales con hipoalbuminemia severa pueden deteriorar rápidamente y desarrollar complicaciones que alteren la salud de los mismos, tales como tromboembolismo, efusión pleural o ambos. (Melzer y Sellon, 2002; Ettinger y Feldman, 2007; Washabau y Day, 2013; Craven y Washabau, 2019).

Las causas habituales de enteropatía por pérdida de proteínas incluyen linfoma y la enfermedad inflamatoria intestinal, pero también existen informes de enteropatía por pérdida de proteínas asociadas a criptas intestinales (Willard, 2000, Craven y Washabau, 2019). La respuesta al tratamiento con antibióticos e inmunodepresores es variable, algunos perros empeoran bruscamente, muriendo debido al desarrollo de enfermedad tromboembólica (Melzer y Sellon, 2002; Ettinger y Feldman, 2007).

3.4.1.8.-NEOPLASIAS INTESTINALES

Los linfomas, adenocarcinomas y mastocitomas son tumores digestivos muy frecuentes en gatos, mientras que los adenocarcinomas y los leiomiomas son más comunes en perros, mientras que los fibrosarcomas, hemangiosarcomas, y los tumores de células plasmáticas son raros. Entre los signos clínicos se incluyen pérdida de peso, y un espectro de signos que comprenden diarrea, anorexia, melena, vómitos, molestias abdominales, derrame abdominal y anemia. Otras consecuencias de las neoplasias intestinales son invaginaciones, perforación intestinal y diversos efectos paraneoplásicos. (Ettinger y Feldman, 2007)

3.4.1.8.1.-LINFOMA INTESTINAL

Caracterizado por infiltración mucosa, submucosa, o epitelial de linfocitos neoplásicos, que pueden invadir el intestino de forma solitaria, difusa o localizada. Las formas localizadas producen obstrucción. La infiltración difusa es más frecuente y produce malabsorción. Se ha descrito que muchas de las enteritis linfoplasmocitaria evolucionan a linfoma. (Ettinger y Feldman, 2007; Zandvliet, 2016).

SIGNOS CLÍNICOS

Afecta a perros y gatos mayores o de mediana edad. La pérdida de peso, diarrea crónica e inapetencia progresiva son características comunes, aunque también hay melena y vómitos. En la palpación abdominal se aprecia el intestino engrosado de manera difusa, linfadenopatías generalizadas que pueden sugerir un linfoma multicéntrico o una forma alimentaria que afecta al hígado. Pueden desarrollarse signos clínicos de hipoproteinemia si el linfoma difuso produce Enteropatía con pérdida grave de proteínas (Ettinger y Feldman, 2007; Zandvliet, 2016).

DIAGNÓSTICO

El examen hematológico muestra anemia normocítica-normocrómica no regenerativa o microcítica e hipocrómica, también existe neutrofilia. Las pruebas bioquímicas habituales revelan pan-hipoproteinemia en perros y gatos con linfoma difuso, mientras que las neoplasias de células B suelen cursar con hiperglobulinemia debido a gammapatía monoclonal (Ettinger y Feldman, 2007).

También hay que evaluar la alteración en la concentración sérica de folato y cobalamina como resultado de malabsorción o secundario a obstrucción intestinal (Ettinger y Feldman, 2007; Day y Washabau, 2013).

El examen ecográfico muestra un engrosamiento difuso o localizado con disminución de la pared intestinal y linfadenopatías mesentéricas; también se realiza biopsia intestinal que es el método de referencia para el diagnóstico del linfoma digestivo, observándose pérdida de la capa normal estratificada de la pared y en menor medida aumento del grosor de la pared, y linfadenopatía del mesenterio (Zandvliet, 2016). La inmunohistoquímica ayuda al diagnóstico si todos los linfocitos son de mismo linaje. (Ettinger y Feldman, 2007), en ocasiones biopsias transmurales de todo el espesor o ensayos de clonalidad (PARR) son requeridos (Zandvliet, 2016).

3.4.1.8.2.-ADENOCARCINOMA INTESTINAL

El adenocarcinoma es habitual en perros y gatos de mediana edad y mayores. En perros estos tumores tienen predilección por el duodeno, mientras que en gatos afecta con más frecuencia al yeyuno e íleon. (Ettinger y Feldman, 2007). Estas patologías son infiltrativas y se relacionan con obstrucción parcial o peritonitis cuando se produce perforación. La palpación abdominal revela engrosamiento localizado del intestino, habiendo en algunos casos melena (Ettinger y Feldman, 2007).

El examen hematológico muestra anemia regenerativa y normocítica-normocrómica, o hipocrómica y microcítica. La anemia es Coombs positiva. La radiografía puede sugerir obstrucción, mostrando estenosis característica de los carcinomas intestinales. La ultrasonografía es el medio más efectivo de diagnóstico para evaluar lesiones murales, motilidad y linfadenopatías (Paoloni y cols. 2002; Ettinger y Feldman, 2007).

3.4.1.8.3.-TUMORES DE MUSCULATURA LISA DE INTESTINO DELGADO

Aquí se incluyen leiomiomas y leiomiomas, que son poco frecuentes en perros y raros en gatos. Para su detección son necesarios procedimientos inmuno-histoquímicos (Ettinger y Feldman, 2007), mostrando positividad a la actina y la desmina (Frost y cols., 2003).

Suelen ser tumores nodulares, adscritos a la superficie luminal, bien diferenciados en células musculares lisas con fuerte componente eosinófilo (Barker I.K. y Van Dreumel A.A., 1993), y una densidad celular de baja a moderada con nula actividad mitótica (Frost y cols., 2003).

Entre los signos clínicos destacan vómitos, diarrea, anorexia, poliuria, polidipsia, melena, colapso y pérdida de peso. Se han observado también efectos paraneoplásicos, sobre todo hipoglucemia, diabetes insípida y eritrocitosis. (Ettinger y Feldman, 2007; Washabau y Day, 2013).

3.4.1.8.4.-OTRAS NEOPLASIAS

Destacan los fibrosarcomas, mastocitomas y tumores carcinoides, que tienden a ser localmente invasores y se presentan con signos clínicos parecidos a los de los adenocarcinomas intestinales. El diagnóstico se basa en la confirmación histológica y en ocasiones inmunohisto-química del tipo de tumor. Es raro que surjan hemangiosarcomas en el intestino delgado y los signos se relacionan con hemorragia. Se han observado pólipos adenomatosos que afectan al intestino delgado en gatos de mediana edad, con signos clínicos que incluyen vómitos, hematemesis o diarrea, y anemia microcítica. (Ettinger y Feldman, 2007; Washabau y Day, 2013; Grüntzig y cols., 2015).

3.4.1.9.-SINDROME DEL INTESTINO CORTO

Síndrome que aparece cuando falta una parte de la longitud del intestino delgado (más de dos tercios) debido a resección (Joy y Patterson, 1978; Gorman y cols., 2006), o a anomalía congénita (Prassinis y cols 2003). Estos animales no tienen suficiente masa intestinal para la asimilación de nutrientes y electrolitos. El grado de malabsorción depende de la longitud del intestino que se resecciona. Estudios experimentales han mostrado que se tolera la eliminación de más del 85% del intestino (Gorman y cols., 2006; Steiner, 2008; Fernández y cols., 2017). Es importante la zona de resección; siendo la resección del yeyuno, la más crítica pues produce malabsorción de alimentos, agua y electrolitos, la resección de íleon causa malabsorción de cobalamina y ácidos biliares. (Kouti y cols., 2006; Ettinger y Feldman, 2007), por lo que el paciente debe recibir suplementación de cobalamina. Si se resecciona la válvula íleo-cólica, es necesario tratamiento para evitar el sobrecimiento bacteriano y aumento de diarrea crónica (Fernández y cols., 2017).

Estudios recientes han observado que la resección masiva del intestino delgado provoca cambios en su regulación hormonal, produciendo hipergastrinemia y aumento consiguiente de la secreción ácida. El síndrome sólo surge después de la resección pues la hiperplasia adaptativa del intestino puede llevar a una mejoría posterior (Kouti y cols., 2006; Washabau y Day, 2013; Dandrieux, 2016).

3.4.1.10.-DESORDENES DE LA MOTILIDAD

Se observan alteraciones secundarias en la motilidad intestinal después de cirugía abdominal, isquemia o lesiones inflamatorias tales como peritonitis, pancreatitis, o infección por parvovirus. En desordenes de malabsorción e indigestión, las partículas activas osmóticas presentes en el lumen intestinal pueden disminuir el tiempo de tránsito. Se debe suministrar cantidades pequeñas de alimento, bajo en grasa y proteínas, en intervalos frecuentes para ayudar a reducir los síntomas de vaciado gástrico. Se recomienda terapia médica si no funciona la gestión de dieta. (Washabau y Hall, 1997).

3.4.1.11.-ALTERACIONES EN LA MICROFLORA DE INTESTINO DELGADO (SOBRECRECIMIENTO BACTERIANO DE INTESTINO DELGADO).

Responde con el término de diarrea de respuesta a antibióticos (ARD) más que a un sobrecrecimiento de bacterias en intestino o SIBO. También se han descrito otros términos como los de “Diarrea de respuesta a Tilosina (TRD)” (Hall,1999; Westermarck y cols., 2005; Allenspach y cols. 2006, Allenspach y cols. 2007, Allenspach y cols. 2016; Walker 2013). Es importante diferenciar estas patologías SIBO/ARD/TRD de desordenes gastrointestinales causados por bacterias patógenas potenciales como *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Clostridium perfringens* y *Clostridium difficile*. El SIBO nunca ha sido reportado en gatos, pues incluso gatos sanos muestran niveles de bacterias en duodeno mucho más elevados que perros sanos, y estos niveles no difieren de gatos con enteropatías. (Steiner, 2008)

PATOFISIOLOGIA

Hay varios procesos fisiológicos que regulan los mecanismos de colonización bacteriana en el intestino delgado, incluyendo la secreción de ácido gástrico, factores antibacterianos (i.e., secreciones pancreáticas y biliares), y aquellos que afectan a la motilidad intestinal. El fallo de uno o más de estos mecanismos de control puede alterar la microflora de intestino delgado resultando en signos clínicos asociados a SIBO. (Hall, 1999; German y cols., 2003; Steiner, 2008).

El desequilibrio de la microflora intestinal, sobre todo en intestino delgado puede generar enfermedad gastrointestinal ya que las bacterias realizan actividades esenciales como es la desconjugación de los ácidos biliares. Este desequilibrio llevaría a una malabsorción de las grasas, así como a un aumento de toxicidad en las células epiteliales hospedadoras debido a producción de ácidos grasos de cadena corta tóxicas, pudiendo dañar los enterocitos, el borde en cepillo intestinal junto con daño en las proteínas de transporte (Steiner, 2008).

SIGNOS CLINICOS DE SIBO

Los signos clínicos de microflora intestinal anormal incluyen diarrea intermitente y variaciones en el apetito (i.e. polifagia). Se observa pérdida de peso o pobres crecimientos. Los propietarios también describen que sus animales muestran borborigmos y/o flatulencias, así como moderada esteatorrea debido a malabsorción crónica grasa (Steiner, 2008).

DIAGNOSIS

El diagnóstico de SIBO es difícil debido a alteraciones en el suero de la cobalamina y/o concentraciones de folato. Otros condicionantes son la no detección de patógenos intestinales que pueden responder a terapia de antibióticos, aunque una respuesta positiva no necesariamente confirma la presencia de SIBO. Además, otros procesos como la EPI, la Enfermedad Inflamatoria Intestinal, linfoma intestinal, linfangiectasia o intolerancia alimentaria deben ser descartados. Es importante descartar la presencia de parásitos intestinales como *Giardia spp.* y bacterias como *Clostridium spp.* Enterotoxigénicos, *Campylobacter spp.*, *Salmonella spp.* o *E.colli* enterotoxigénico (Steiner, 2008).

Cobalamina en suero y concentración de folato

La evaluación de cobalamina en suero y la concentración de folato es actualmente la ayuda más útil para el diagnóstico de SIBO. En perros con esta enfermedad, la cobalamina en suero disminuye y el folato en suero puede aumentar (Hall, 1999, Steiner 2008; Dandrieux, 2016).

Las aberraciones en la microflora de intestino delgado producen un incremento en la competición por cobalamina, resultando en la disminución de estas vitaminas. Dentro de este fenómeno destaca *Bacteroides spp.*, que son microorganismos involucrados en la competición por cobalamina. (Hall, 1999)

Las bacterias presentes en el intestino producen largas cantidades de ácido fólico. Sin embargo, los transportadores de folato están localizados exclusivamente en la parte proximal de intestino delgado, así que el folato producido en la parte distal del intestino no se absorbe y es excretado. Sin embargo, la recogida de folato y cobalamina del intestino delgado es altamente compleja y puede ser afectada por otros mecanismos.

3.4.2.-ENFERMEDADES DE INTESTINO GRUESO

El intestino grueso de perros y gatos ha evolucionado para desempeñar dos funciones principales: 1) La extracción de agua y electrolitos y 2) Controlar la defecación (Simpson, 1998; Ettinger y Feldman, 2007). Estas funciones regulan el transporte de líquidos, la fermentación bacteriana, la motilidad, la vigilancia inmunitaria y el flujo sanguíneo.

El intestino grueso al absorber sodio y agua deshidrata las heces antes de la defecación. Las glucoproteínas mucosas atrapan las bacterias patógenas y evitan la translocación bacteriana; las células epiteliales, los linfocitos, las células plasmáticas, los macrófagos y las células dendríticas sirven para regular la microflora bacteriana y la respuesta inmunológica a los microbios; y la motilidad sirve para facilitar el almacenamiento o la defecación de las heces. (Ettinger y Feldman, 2007; Washabau y Day, 2013).

3.4.2.1.-EVALUACIÓN DIAGNÓSTICA

Anamnesis y exploración física

La anamnesis implica cuestiones específicas como dieta, control de parásitos, medioambiente y enfermedades médicas relacionadas con consumos farmacológicos. También es relevante destacar antecedentes de viajes por posibles infecciones (histoplasmosis y pitiosis), e información sobre enfermedades médicas concomitantes (p.ej enfermedad de Addison, Enfermedad inflamatoria intestinal, pancreatitis) (Ettinger y Feldman, 2007).

En la exploración física hay que buscar si existe fiebre (enfermedad inflamatoria intestinal, perforación del ciego o colon, infección por hongos), dolor abdominal (enfermedad inflamatoria intestinal, neoplasia del colon, perforación del ciego o el colon), masas abdominales (neoplasia del colon, colitis granulomatosa, invaginación), engrosamiento del intestino delgado (Enfermedad inflamatoria intestinal coexistente, linfoma), linfadenopatías mesentéricas, hepatoesplenomegalia (linfoma, infección micótica diseminada) y uveítis (prototecosis, linfoma).

Otro de los signos clínicos de importancia es el que tiene que ver con el estreñimiento, presentando defecación reducida, ausente o dolorosa durante un periodo de tiempo que varía de unos días, a semanas o meses. En gatos con estreñimiento idiopático observamos deshidratación con pérdida de peso, dolor abdominal y linfadenopatías mesentéricas de leve a moderada. (Ettinger y Feldman, 2007).

TÉCNICAS DE IMAGEN

Los estudios radiológicos pueden apreciar gran inespecificidad sobre todo relacionada a presencia de cuerpos extraños, linfadenopatía mesentérica o sublumbar, invaginación y compresión extraluminal. La ecografía es interesante para diagnosticar lesiones tumorales, linfadenopatías, invaginaciones y engrosamiento del intestino, además de ayudar en la aspiración percutánea de tumores luminales. Experimentalmente, en perros se ha utilizado la colonoscopia virtual aplicando colonografía con tomografía computarizada (Ettinger y Feldman, 2007).

COLONOSCOPIA

La endoscopia rígida o flexible permite mejorar la visualización y examen del colon, permitiendo observar la mucosa que es de color rosa con textura lisa y aspecto brillante. La colonoscopia permite identificar las estructuras más proximales (colon ascendente, ciego, esfínter ileocecal, e íleon distal) caracterizadas por inflamación, parasitismo, invaginación íleo-cólica, inversión cecal y neoplasia.

Para realizar la endoscopia, se debe vaciar la mucosa del colon, con el paciente en ayunas durante 36 a 48 horas para que no se acumule material fecal en el colon. Se debe administrar al paciente enemas de agua o soluciones de lavado GI.

3.4.2.2.-PATOLOGIA DEL INTESTINO GRUESO:

3.4.2.2.1.-INFECCIÓN

Varios microorganismos infecciosos y parasitarios colonizan el colon. Destacan los helmintos (*Trichuris*, *Ancylostoma*), los protozoos (*Giardia*, *Trichomonas*), los hongos (*Histoplasma*), los oomicetos (*Pythium*), las algas (*Prototheca*) y las bacterias (*Brachyspira*, *Campylobacter*, *Clostridium*, *E. coli* enteropatógenos y enterotoxigénicos y *Salmonella*). Se debe incluir examen de heces directos e indirectos para helmintos y protozoos, cultivos bacterianos de heces y pruebas serológicas. Existen microorganismos que tienen una patogenicidad baja, pero los microorganismos comensales pueden volverse patógenos en circunstancias particulares. (Ettinger y Feldman, 2007).

HELMINTOS

a) *Trichuris*: La infección por *T. vulpis* es la causa más frecuente de diarrea crónica en perros. Los gatos se infectan con *T. serrata* y *T. campanula* (Barker y Van Dreumel, 1993). Los signos clínicos de perros y gatos infectados por *Trichuris* varían de infecciones asintomáticas a episodios intermitentes de heces mucosas o diarrea hemorrágica, con tenesmo y disquecia. (Ettinger y Feldman, 2007).

La transmisión es mediante ingestión de óvulos infecciosos de *Trichuris*. Estos huevos eclosionan en intestino delgado y sus larvas migran al ciego y colon, adhiriéndose a la mucosa. Entre los factores que contribuyen a la enfermedad tenemos el número de vermes maduros presentes, su localización, el grado de inflamación, el estado nutricional del huésped y la presencia de otros parásitos y microorganismos (Barker y Van Dreumel, 1993; Washabau y Day, 2013).

b) *Ancylostoma caninum*: Los anquilostomas son patógenos primarios del intestino delgado, pero infectan el colon y el ciego de forma muy intensa. El diagnóstico se realiza demostrando la presencia de huevos en las heces (Barker y Van Dreumel, 1993; Ettinger y Feldman, 2007).

En caso de presentar signos clínicos, se observan vómitos, pérdida de peso, diarrea hemorrágica y emaciación progresiva. Además de hipoalbuminemia, hiperglobulinemia, hipercalcemia y aumento de enzimas hepáticas. El diagnóstico se confirma mediante la presencia de huevos en examen fecal o en la biopsia (Ettinger y Feldman, 2007).

PROTOZOOS

- *Entamoeba histolytica*: Es poco patógena en perros y gatos, y se escinde para despolimerizar el complejo Muc2, llevando a la pérdida de viscosidad y disgregación del mucus (Lidell y col., 2006; Linden y col., 2008; McGuckin y col, 2009).

- *Tritrichomonas foetus*: Es un parásito venéreo importante en gatos. *T. foetus* también produce infección intraluminal del colon. En infecciones experimentales se demostró como *trichomonas* coloniza íleon, ciego y colon, residiendo en contacto estrecho con el epitelio, y dando lugar a diarrea crónica que se exacerba si hay criptosporidiosis. Su diagnóstico es mediante la observación directa de tricomonas en las muestras de heces recién obtenidas y suspendidas en solución salina (Ettinger y Feldman, 2007).

HONGOS

- *Histoplasma Capsulatum*: Es una micosis sistémica de perros y gatos. Está presente en el suelo y el ambiente. La infección se produce por inhalación o ingestión de los conidios y que transformados en micelios son fagocitados por los macrófagos. Esta enfermedad provoca inflamación granulomatosa intensa. Es imprescindible establecer el diagnóstico definitivo mediante citología. Se observa una infección piogranulomatosa, con numerosas levaduras pequeñas, redondas u ovaladas intracelulares que se caracterizan por un centro basófilo y un halo luminoso. Se suelen realizar tinciones de PAS y tinción de plata de Gomori para demostrar presencia de microorganismos. (Ettinger y Feldman, 2007)

OOMICETOS

- *Pythium insidiosum*: Es un oomiceto acuático que produce enfermedad gastrointestinal grave en huéspedes de climas tropicales y subtropicales. Los miembros de la clase oomicetos son filogenéticamente distintos del reino de los hongos y se relacionan más estrechamente con las algas. A diferencia de los hongos no poseen quitina y carecen de ergosterol (Ettinger y Feldman, 2007; Gaastra, 2010; Washabau y Day, 2013).

Los animales afectados presentan emaciación, engrosamiento de la pared íleo-cólica, y linfadenopatía regional. Los tejidos afectados contienen múltiples focos de necrosis rodeados e infiltrados por neutrófilos, eosinófilos y macrófagos. El diagnóstico definitivo requiere la demostración histológica o tinción inmunohistoquímica del microorganismo, ELISA o PCR, o combinación de estas técnicas (Ettinger y Feldman, 2007; Steiner, 2008). Dentro de los signos clínicos se incluyen la pérdida de peso, vómitos, diarrea y hematoquecia (Ettinger y Feldman, 2007).

BACTERIAS

-*Brachyspira pilosicoli*: son espiroquetas intestinales que se encuentran en intestino de perros sanos y con diarrea. Los perros presentan infección subclínica, pero en ambientes no higiénicos o en perros con inmunidad comprometida puede asociarse con diarrea, pues su gravedad se asocia a la habilidad de estas espiroquetas para unirse a la superficie epitelial del colon y en ciego.

-*Campylobacter*: *Campylobacter* puede inducir una enfermedad significativa de tubo digestivo. Destacan *C. jejuni*, *C. coli*, *C. upsaliensis* y *C. helveticus*. La infección aparece cuando *C. jejuni* se convierte en entero-invasivo, a nivel de las criptas induce enterocolitis erosiva superficial. Las glándulas epiteliales del colon sufren hiperplasia y engrosamiento con exfoliación del borde en cepillo y de las células caliciformes. Produce diarrea acuosa, con moco y restos sanguíneos, tenesmo, anorexia, fiebre y vómitos. (Ettinger y Feldman, 2007)

-*Clostridium perfringens*: es una bacteria gram positiva, que forma esporas, y anaerobia obligada. La patogenia requiere anaerobiosis, esporulación y producción de enterotoxina, aunque puede producirse la enterotoxina sin esporulación y en heces de perros sanos. Las bacterias se clasifican en función de los tipos toxigénicos, siendo la más patogénica la toxina A. Como signos clínicos se observa colitis diarreica de tipo agudo, nosocomial o crónica. A menudo presenta pigmentos sanguíneos, moco y tenesmos (Ettinger y Feldman, 2007).

El diagnóstico está basado en tinción de Gram +, cultivos de heces, test ELISA, PCR para identificar las enterotoxinas y descartar otras enfermedades del colon mediante colonoscopia y biopsia (Ettinger y Feldman, 2007).

-*Escherichia coli*: Microorganismos comensales, no asociados a signos clínicos. Agrupándose en cinco categorías principales: 1) enterotoxigénicos (ECET), 2) entero-invasivos (ECEI), 3) enteropatógenos (ECEP), 4) enterohemorrágicos (ECEH) y 5) entero-adherentes (ECEA). Para la identificación de cepas patógenas se requiere hibridación del ADN y PCR amplificada. La infección produce enteritis, colitis o ambas. Las cepas enterotoxigénicas (ECET) se adhieren a la superficie de las células epiteliales produciendo toxinas que son termolábiles, termoestables o ambas. Las endotoxinas de *E. coli* producen la absorción de agua en colon, contribuyendo a la diarrea que se observa durante la enfermedad, no solo en colon sino en intestino delgado o ambas partes (Ettinger y Feldman, 2007).

-*Salmonella*: Son bacilos anaerobios facultativos móviles, Gram negativos, que se encuentran en las heces de animales normales y diarreicos. La alta prevalencia de estos microorganismos complica el diagnóstico. Existen varias especies implicadas en la patogenia de la enterocolitis aguda en perros y gatos. *S. typhimurium* es la especie que más se aísla en las heces diarreicas de perros y gatos. Induce una respuesta inflamatoria aguda que produce enterocolitis, desprendimiento de la mucosa y diarrea secretora. Los más jóvenes e inmunocomprometidos son los más afectados. Entre los signos clínicos destacan anorexia, letargo, fiebre, vómitos, diarrea con pigmentos sanguíneos y moco, dolor abdominal y tenesmo. En caso de septicemia hay mucosas pálidas, debilidad, taquicardia, taquipnea y colapso vascular. Como método de diagnóstico se hacen cultivos, serotipo y PCR. Tratamiento variará según la gravedad de los signos clínicos. (Washabau y Day, 2013)

-*Yersinia enterocolitica*: Microorganismo comensal del tubo digestivo de perros y gatos. Se transmite por ingestión de cerdo crudo o agua contaminada. (Steiner, 2008)

INFECCIONES VIRALES

ENTERITIS POR PARVOVIRUS CANINO

El parvovirus canino (CPV) es un DNA virus altamente resistente al medioambiente. Existen dos cepas más comunes, las CPV-1 y CPV-2. La cepa causante de la mayoría de enfermedades en perros por debajo de 6 meses de edad es la CPV-2. El periodo de incubación en medioambiente de esta cepa oscila entre 7-14 días. La vía de transmisión es a través de tejido linfoide oronasal y desde aquí se extiende a través del sistema linfoide a otros órganos, sobre todo epitelio de criptas intestinales y médula ósea. El virus destruye la cripta intestinal dejando al epitelio susceptible de ser infectado por bacterianas secundarias, especialmente microorganismos gram negativos. Entre los signos clínicos destacan vómitos, diarrea sanguinolenta, anorexia, además de fiebre debido a leucopenia y rotura de la barrera intestinal. También se ha visto miocarditis en mascotas que han desarrollado infección vía útero o hasta 8 semanas después de su nacimiento. (Steiner, 2008)

El diagnóstico se realiza a través de ELISA, el cuál es positivo hasta 10-12 días post infección. Para evitar su propagación se requiere la desinfección de áreas contaminadas mediante hipoclorito sódico. (Steiner, 2008).

VIRUS DEL MOQUILLO CANINO

El virus del Moquillo canino o CDV (Canine distemper virus) es un virus RNA de envuelta monocatenaria. La infección ocurre sobre todo entre los 3-6 meses de edad. Su gravedad depende de la patogenicidad de la cepa vírica. El virus se disemina desde los macrófagos en el tracto respiratorio superior hasta el tejido linfático del estómago, intestino e hígado. En esta fase, los perros desarrollan leucopenia y fiebre. Sobre los 14 días post infección, el virus puede desaparecer o extenderse a los tejidos epiteliales de la piel, y de las glándulas exocrinas y endocrinas, así como al tracto gastrointestinal, respiratorio y genitourinario. Muchos de los perros muestran signos clínicos agudos con persistencia del virus en tejidos afectados. La extensión al Sistema Nervioso Central depende del grado de la respuesta del sistema inmune. Las pautas de vacunación para el moquillo CDV incluyen vacunación de recordatorio cada 3-4 semanas hasta que las crías tienen 16 semanas de edad. (Steiner, 2008)

INFECCIÓN POR CORONAVIRUS FELINO

La infección por coronavirus felino (FeCoV) es una infección que puede manifestar por sí mismo dos síndromes diferentes: un síndrome de tránsito, caracterizado por una diarrea media, o dar lugar a enfermedad granulomatosa diseminada, llamada peritonitis infecciosa felina (FIP). La enfermedad diseminada se cree causada por una mutación del FeCoV como resultado de un incremento del tropismo de los macrófagos. El virus es transmitido mediante la ingestión o inhalación. Primariamente se infecta células epiteliales intestinales, pero puede extenderse a los macrófagos si éste porta un gen que codifica una proteína. Esto puede dar lugar a FIP mediante el inicio de una enfermedad inmunológica compleja. (Steiner, 2008)

PANLEUCOPENIA FELINA

Esta causada por un parvovirus felino (FPV), se trata de un virus muy estable, sin envoltura y que sobrevive en el medioambiente hasta 1 año. El virus se encuentra acantonado en las heces como reservorio y puede permanecer hasta 6 semanas desde la infección. Muchas de las infecciones con FPV son subclínicas. El virus usualmente se desarrolla desde las tonsilas hasta otros tejidos linfoides, la médula ósea y las células de las criptas intestinales. Los signos clínicos de enfermedad son fiebre, depresión, anorexia, vómitos, severa deshidratación, diarrea sanguinolenta y ulceraciones orales. En hembras preñadas, los signos clínicos pueden incluir infertilidad, alteraciones del feto (momificación) y abortos. Si la infección aparece durante el último estadio de gestación, las crías pueden sufrir daño cerebelar (Steiner, 2008).

VIRUS DE LA LEUCEMIA FELINA (FeLV) Y VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA FELINA (FIV)

Los gatos infectados con FeLV o FIV predominantemente muestran signos de supresión inmune, linfoma, leucemia y anemia no regenerativa. La diarrea es a menudo una señal de inmunosupresión general asociada con infección secundaria por virus enteral, bacterias u hongos. Aunque puede realizarse una terapia sintomática para controlar los signos clínicos, la prognosis a largo término es bastante baja. (Steiner, 2008).

3.4.2.2.2.-INFLAMACIÓN. Enfermedad inflamatoria intestinal.

Se define mediante criterios clínicos, histológicos, inmunológicos, fisiológicos y genéticos.

Criterios clínicos: La EII se define como un conjunto de trastornos gastrointestinales de causa desconocida que se asocian a inflamación crónica del estómago, intestino o colon. Sólo se considera un diagnóstico clínico de EII si los animales afectados tienen 1) signos gastrointestinales (anorexia, vómitos, pérdida de peso, diarrea, hematoquecia, heces mucosas), persistentes (duración > 3 semanas). 2) no se documentan otras causas de gastroenterocolitis mediante la evaluación diagnóstica y 3) un diagnóstico etiológico de inflamación intestinal benigna. Se han observado formas de EII del intestino delgado e intestino grueso en perros y gatos, aunque parece que la EII del intestino grueso está más extendida en los perros. (Steiner, 2008)

Criterios histológicos: La EII se ha definido por el tipo de infiltrado inflamatorio (neutrófilico, eosinofílico, linfocítico, plasmocítico, granulomatoso), la enfermedad de la mucosa asociada (atrofia de las vellosidades, fusión, colapso de las criptas), la distribución de la lesión (localizada o generalizada, superficial o profunda), la gravedad (leve, moderada, grave) y la topografía (fondo gástrico, antro gástrico, duodeno, yeyuno, íleon, ciego, colon ascendente o descendente).

Criterios inmunológicos: Por el momento no se han definido los fenómenos inmunológicos preciso de la EII canina y felina, definiéndose por la respuesta innata y adaptativa de la mucosa a los antígenos gastrointestinales. Los modelos animales explican que la EII produce alteraciones en el desarrollo de las células T y su función o ambos, implicando a las células T en la regulación homeostática de la respuesta inmunitaria de la mucosa. La EII produce un aumento de la población de células T en la lámina propia, que incluye células CD3+, CD4+, macrófagos, neutrófilos y células plasmáticas. Los enterocitos presentes en la EII se activan comportándose como células presentadoras de antígenos y los linfocitos de la mucosa son activados mediante

interleucinas. La regulación al alza de la expresión de receptores de tipo Toll 4 TLR4 y TLR2 aumenta la respuesta inmunitaria innata del colon (McMahon, 2009).

Criterios fisiopatológicos: La EII puede definirse fisiopatológicamente en términos de cambios en el transporte, el flujo sanguíneo y la motilidad. Los signos clínicos de la EII, en intestino grueso se han atribuido durante mucho tiempo a la fisiopatología de la malabsorción y la hipersecreción, pero los modelos experimentales de la EII canina han relacionado los signos clínicos con la aparición de patrones de motilidad anormales. (Ettinger y Feldman, 2007)

La fisiopatología de la enfermedad presenta dos mecanismos fundamentales: 1) La respuesta inmunitaria de la mucosa y 2) los cambios de la motilidad

1) Respuesta inmunitaria: La EII implica elementos celulares (linfocitos B y T, células plasmáticas, macrófagos y células dendríticas), neuronas secretomotoras (pej. Polipéptido intestinal vasoactivo, sustancia P, neuronas colinérgicas), citoquinas e interleucinas, y mediadores inflamatorios (leucotrienos, prostanoïdes, óxido nítrico (NO), IFN-gamma, TNF-alfa, factor activador de las plaquetas).

La respuesta inflamatoria de EII en intestino delgado y grueso tiene algunas diferencias entre ellas. Así, la EII del intestino delgado en perros presenta una mezcla de respuestas Th1 y Th2, mientras que la del EII del colon canino es una respuesta más específica de tipo Th1 donde participa IL-2, IL-12, IFN-gamma y TNF-alfa. Además, en EII de colon canino se ha demostrado un aumento de IgA e IgG, CD3, NO y óxido nítrico sintasa inducible (NOsi) (Ettinger y Feldman, 2007).

2) Cambios de motilidad: Muchos de los signos clínicos (diarrea, dolor abdominal, tenesmos y urgencia de la defecación) se relacionan con anomalías motoras del colon. La inflamación altera la regulación de patrones de motilidad del colon a varios niveles (neuronas entéricas, células intersticiales de Cajal, células del músculo liso circulares).

EXPLORACIÓN CLÍNICA EII

Los signos clínicos son los de la diarrea de intestino grueso, con aumento de la frecuencia, volumen fecal reducido, con pigmentos sanguíneos y moco. En ocasiones se observa anorexia, pérdida de peso y vómitos. La gravedad de los signos clínicos aumenta y disminuye. Cuando se cronifica la enfermedad, la frecuencia e intensidad de la diarrea aumentan gradualmente y se hace continua. El primer movimiento intestinal del día puede ser normal, mientras que sucesivamente los movimientos intestinales se reducen en volumen y son más urgentes y dolorosos. En los episodios graves puede haber febrícula, depresión y anorexia.

La edad es un factor de riesgo de importancia en animales de mediana edad, pero no hay predilección de la enfermedad por el sexo. La raza pastor alemán y bóxer presentan más riesgo de desarrollar EII. En gatos, los de raza pura son los más predispuestos. Los gatos tienen una forma de EII gastrointestinal superior, y los perros tienen riesgo de EII tanto de intestino delgado como grueso (Ettinger y Feldman, 2007).

DIAGNÓSTICO

En los casos leves de EII de intestino grueso, tanto hematocrito, como bioquímica y análisis de orina suelen ser normales. En los casos crónicos puede haber una o más anomalías sutiles. De esta manera, en EII canina y felina hay varias anomalías hematológicas, incluyendo anemia leve, leucocitosis, neutrofilia con y sin desviación a la izquierda, eosinofilia, eosinopenia, linfopenia, normocitosis y basofilia. Se han observado varias anomalías bioquímicas, donde se incluyen aumento de la actividad de alanina aminotransferasa y fosfatasa alcalina en suero, hipoalbuminemia, hipoproteinemia, hiperamilasemia, hiperglobulinemia, hipopotasemia, hipocolesterolemia e hiperglucemia (Ettinger y Feldman, 2007).

En los últimos tiempos se ha desarrollado un índice de puntuación de la actividad patológica en EII canina que relaciona gravedad de signos clínicos con la concentración de proteínas de fase aguda (proteína C reactiva o PCR, amiloide A sérico) (Jergens y cols., 2003; Allenspach y cols., 2007). El índice de actividad de EII canina (ISEIIC) contiene niveles de gravedad en relación a cada uno de los signos gastroenterológicos (p.ej anorexia, vómitos, pérdida de peso, diarrea). Curiosamente, tanto el índice de actividad como las concentraciones séricas de PCR mejoran con el éxito del tratamiento, lo que indica que la PCR sérica es útil para la evaluación del tratamiento de la EII canina.

3.4.2.2.3.-COLITIS

La colitis felina y canina se clasifican en colitis linfocítica-plasmocítica, eosinofílica, histiocítica y granulomatosa (Simpson, 1998). Los signos se caracterizan por aumento de mucosidad fecal, hematoquecia, tenesmos, aumento en la frecuencia de defecación y volumen de heces reducido. Se observan vómitos, anorexia, deshidratación y dolor abdominal. Si se involucra el intestino delgado, puede ocasionar melena y pérdida de peso (Steiner, 2008).

La colitis crónica está asociada con enfermedad inflamatoria intestinal o *Clostridium perfringens* entero-tóxicos. Causas no comunes de colitis incluyen colitis ulcerativa histiocítica, *pitiosis* (ficomicosis), colitis asociada con histoplasmosis, las algas unicelulares como *Prototheca spp.*, y *Heterobilharzia americana* (schistosomiasis) (Steiner, 2008).

-COLITIS ULCERATIVA HISTIOCITICA DE BOXERS

Dentro de la enfermedad crónica idiopática en Bóxer destaca la colitis ulcerativa histiocítica, asociada con infiltrado de células plasmáticas, linfocitos y macrófagos. Hay pérdida de peso y debilidad que se corresponde con pérdida crónica de sangre y de proteínas. Normalmente aparece en Bóxer de menos de dos años de edad, también han sido reportados en Bulldog francés, Mastiff, Alaskan Malamute y Doberman Pinscher (Steiner, 2008)

-ENTEROCOTOXICOSIS POR CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

El intestino grueso está asociado con la enterotoxina de tipo A de *Clostridium perfringens*. Normalmente ocurre en perros aunque también en gatos. Se caracteriza por una prevalencia de *Clostridium perfringens* fecal en perros con diarrea, perros hospitalizados sin diarrea y pacientes sanos.

PATOFISIOLOGIA

El *Clostridium perfringens* es un bacilo gran positivo, formador de esporas. Cinco tipos toxigénicos han sido diferenciados basados en la producción de uno a cuatro mayores toxinas, la mayoría de las enterotoxinas son producidas por el tipo de cepa A. Una forma vegetativa de *C. perfringens* es habitual en colon. La enterotoxina es producida durante la esporulación y causa acumulación de fluido intestinales, inflamación de mucosas, alteraciones en las uniones apretadas de mucosa (Tight Junctions), aumentando la permeabilidad paracelular y la diarrea (Steiner, 2008).

SIGNOS CLÍNICOS

Diarrea crónica, diarrea hemorrágica aguda, hematemesis, deshidratación severa, vómitos, pérdida de peso, flatulencias y dolor abdominal. En la necropsia se observa enteritis hemorrágica necrotizante y linfadenopatía mesentérica. La diarrea también ha sido fuertemente asociada a la presencia en heces de enterotoxinas de *C. perfringens* y *C. difficile*.

DIAGNOSIS

El diagnóstico de enfermedad se confirma mediante la identificación de enterotoxina en heces de perro o gato con signos clínicos típicos. El único test disponible es un test ELISA cualitativo. El test esta disponible a través de test diagnósticos comerciales. En animales con signos intermitentes se recogen muestras fecales si la diarrea está presente, pues la enterotoxina puede no estar presente en periodos asintomáticos de enfermedad. Estudios recientes no demuestran una relación entre esporas fecales y presencia de enterotoxinas, pero los perros con enfermedad han sido asociados con gran número de esporas en muestras de citología rectal (Steiner, 2008)

INFECCIÓN POR TRITRICHOMONAS FOETUS

Tritrichomonas foetus es un protozoo flagelado que ha sido identificado como un patógeno intestinal en gatos. La prevalencia en gatos es desconocida. No existe distinción de edad, sexo o raza, pero el hacinamiento de gatos jóvenes parece que produce mayor incidencia de enfermedad (Steiner, 2008). La presencia de tricomonas se asocia con colitis linfoplasmocítica y neutrofílica, e hipertrofia de células epiteliales de criptas, hiperplasia y aumento de actividad mitótica, pérdida de células caliciformes, microabscesos de criptas y atenuación de mucosa colónica superficial (Yaeger y Gookin, 2005).

Tritrichomonas foetus coloniza la superficie de la mucosa colónica, produciendo una diarrea crónica. Aunque la diarrea puede resolverse espontáneamente, a menudo los gatos infectados experimentan episodios recurrentes de diarrea, junto a incontinencia fecal, tras estar expuestos a estrés. La región anal aparece edematosa y dolorida con riesgo de prolapso rectal. Sin tratamiento apropiado los gatos normalmente permanecen infectados. (Steiner, 2008)

DIAGNOSIS

El diagnostico de la infección por *T. foetus* puede ser llevada a cabo mediante la identificación de trofozoítos en un examen fecal por hisopo, cultivo fecal, análisis de PCR de materia fecal, o mediante biopsia.

3.4.2.2.5.-DIARREA DE INTESTINO GRUESO QUE RESPONDE A FIBRA

Usualmente aparece en perros de mediana edad, siendo la solución una dieta altamente digestible suplementada con fibra soluble. Algunos perros enfermos con esta patología presentan síndrome intestinal irritable, lo que provoca una superposición de casos. Los perros pueden presentar enterotoxiosis de *Clostridium perfringens*.

DIAGNOSTICO

El diagnóstico se basa en la exclusión de causas de diarrea en intestino grueso. Si la diarrea responde a suplementación de fibra, el diagnóstico queda confirmado.

3.5.- ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

Se trata de una enfermedad multifactorial con trastornos de signo digestivo que son recurrentes en el tiempo. Predominan dos variantes principales:

- 1) Enteritis linfoplasmocitaria (ELP), habitual tanto en perros como gatos, con afectación de diferentes segmentos del tracto gastrointestinal. Su severidad y perfil varía dentro de lámina propia, así como la relación entre linfocitos y células plasmáticas.
- 2) Gastroenteritis eosinofílica, es menos común y la segunda variante más diagnosticada. (Steiner, 2008)

3.5.1-PRESENTACIÓN DE LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

PRESENTACIÓN CLINICA

La enfermedad inflamatoria intestinal es la causa más común de vómitos crónicos y diarrea en perros y gatos de mediana edad (Feinstein y Olsson, 1992; Tams, 1993; DeBiasio 2008; Steiner, 2008). Se desconoce su prevalencia, pues se diagnostica en exceso y su dificultad radica en la interpretación anatómica e histológicas de las muestras, sobre todo de aquellas recogidas mediante endoscopia (Steiner, 2008)

Los signos clínicos pueden aparecer tras un evento desencadenante (estrés, infección gastrointestinal aguda o cambio en la dieta). Si hay inflamación severa se produce anorexia, aunque puede estar asociada a polifagia con pérdida significativa de peso. En ocasiones puede aparecer dolor postprandial sin otros signos clínicos aparentes (Steiner, 2008)

Los signos gastrointestinales se correlacionan con la región de tracto gastrointestinal afectado. De esta manera, el vómito y la hematemesis se relacionan con el estómago o intestino delgado, mientras que la diarrea es resultado de inflamación del colon, o intestino delgado por presencia de agentes que estimulan la secreción (bacterias, toxinas bacterianas, ácidos biliares desconjugados, o ácidos grasos hidroxilados). Si se observa sangre en vómitos o diarrea se asocia con infiltrado inflamatorio eosinofílico (Steiner, 2008).

En caso de enfermedad crónica severa, ésta se asocia con pérdida de peso y enteritis por pérdida de proteínas (PLE), que da lugar a hipoproteïnemia y ascitis. Algunos autores recomiendan medir la pérdida fecal de proteínas a través de inhibidor Alpha (1) proteïnasa, el cual es un test sensible para pérdidas de proteínas antes que se desarrolló la enfermedad. Para eliminar causas renales y hepáticas basta con ensayos de concentración de suero de ácidos biliares y ratio urinario proteína/creatinina. (Steiner, 2008)

En el examen físico se puede observar ascitis, intestino engrosado, emaciación, melena y hematoquecia. En algunas anormalidades como la enteropatía con pérdida de proteínas podemos observar también tromboembolismo (Steiner, 2008).

3.5.2.-ETIOPATOGENIA

En enfermedad inflamatoria intestinal de pequeños animales no hay etiología subyacente si se compara a la de humanos. La interrupción de la tolerancia inmunológica a los antígenos lumbinales, debida a desequilibrio del sistema inmunitario o alteraciones de microflora intestinal es crítica (German y cols.2003). Los antígenos derivados de la microflora endógena o la dieta son importantes en la patogenia de la enfermedad (Steiner, 2008).

3.5.2.1-SISTEMA INMUNITARIO INTESTINAL Y LA TOLERANCIA ORAL

En el intestino el sistema inmunitario se defiende de la antigenicidad que hay en los microorganismos patógenos y en las proteínas alimentarias por medio de dos mecanismos:

1) Tolerancia oral, en la que la alimentación previa disminuye la capacidad del individuo de responder a la presentación posterior del antígeno (Junginger y col.,2012; Garden en Washabau y Day, 2013). Esta capacidad se puede observar en:

a) Zonas delimitadas en agregados linfoides, placas de Peyer, complejos linfoglandulares y nódulos linfoides mesentéricos.

b) Zonas difusas, en poblaciones de leucocitos de lámina propia y linfocitos intraepiteliales, todos ellos determinantes en la respuesta específica frente a microorganismos patógenos. (Junginger y col., 2012).

2) Regulación de citoquinas por parte de células T helper con propiedades de regulación (Tregs) que mantienen la homeostasis intestinal (Junginger y col. 2012; Tokuhara y col.2019, Vorobjova y col. 2019)- La pérdida de este tipo de células, sus mutaciones o factores de transcripción relacionados, provocan casos graves de enfermedad autoinmune y desordenes inflamatorios crónicos. Estas células T reguladoras o dendríticas (CD4+, CD25, y factores de transcripción Foxp3) se expresan tanto en las zonas delimitadas (placas de Peyer, folículos linfoides) como en zonas difusas (Artis, 2008; Junginger y col. 2012). Estos factores de transcripción intestinal regulan la proliferación y diferenciación de células epiteliales intestinales mediante la expresión del factor de transcripción principal homeobox CDX2 (Amorin y col., 2016). Por medio de técnicas inmunohistoquímicas se observa una gran heterogeneidad de los linfocitos T reguladores debido a su distinta localización, y a sus distintos niveles de maduración e inducción para establecer tolerancia oral en perros (Junginger y col. 2012).

3) Los linfocitos intraepiteliales son un componente de primera línea de defensa en el sistema inmune gastrointestinal y tiene ambos un papel pro- y anti- inflamatorio. Los linfocitos

intraepiteliales intestinales son en su mayoría células T, los cuales están incrustados entre las células epiteliales intestinales. Inmunohistoquímicamente los estudios en el perro han mostrado que el número de linfocitos intraepiteliales están en un rango similar en la vellosidad y las criptas. Dada su localización estratégica entre el lumen y la mucosa intestinal, los linfocitos intraepiteliales poseen diferentes habilidades para el aumento de la respuesta inmune o la supresión de reacciones inflamatorias, dependiendo de las necesidades. (Steiner, 2008)

En estos últimos años ha cobrado fuerza el papel de la desregulación de la inmunología de mucosas frente a bacterias comensales y proteínas alimentarias. Así, pacientes humanos que sufren de enfermedad inflamatoria intestinal presentan un reducido número de linfocitos T reguladores en lámina propia colónica, lo que indica un daño en la función de linfocitos T reguladores o una resistencia de las células efectoras a la supresión mediada por linfocitos T reguladores (Junginger y col., 2012). La suspensión de la actividad de los linfocitos T reguladores conlleva la exacerbación de patología intestinal y aumenta la posibilidad de infección por parásitos. (Junginger y col., 2012)

En perros con EII existe una reducción en la expresión de FoxP3 en las vellosidades duodenales, aunque no existen diferencias en el número de linfocitos T reguladores presentes en estómago y colon de perros con EII en comparación con perros normales. Esto indica una diferencia en el rol de los linfocitos T reguladores en las diferentes partes del intestino delgado (Junginger et al., 2012)

3.5.3.-MORFOPATOLOGÍA Y ALTERACIONES INTESTINALES EN LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

Existen alteraciones propias para cada tipo de estructura intestinal:

- 1) Vellosidad: se altera la altura y anchura de las vellosidades.
- 2) Criptas: dilatación e hiperplasia junto a un aumento del infiltrado celular.
- 3) Epitelio: presencia abundante de linfocitos intraepiteliales, y necrosis focal.
- 4) Lámina propia: fibrosis, hemorragia y edema, evaluándose celularidad general y proporciones de tipos de células particulares (linfocitos, células plasmáticas, macrófagos, neutrófilos y eosinófilos).
- 5) Conductos linfáticos: obstrucción de conductos linfáticos. Se ha observado como las alteraciones microbianas afectan al endotelio linfático.

3.5.3.1.- LA ESTRUCTURA DE LA BARRERA EPITELIAL EN EL INTESTINO

La barrera epitelial está conformada por glicoproteínas que crean una estructura compleja y dinámica (Linden, 2008; Williams y col., 2015). La mucina intestinal está secretada por células mucosas foveolares gástricas y células globulares que forman una capa gruesa que separa la superficie luminal de las células epiteliales intestinales, reduciendo la posibilidad de que bacterias o virus ataquen o penetren la mucosa intestinal (Turner, 2009). Las células epiteliales unidas por “tight junctions” permiten la defensa frente al medio externo gracias a la mucina y células inmunes intestinales localizadas en dos compartimentos mayores: 1) Compartimentos inductivos, donde ocurre la presentación de antígenos a las células del sistema inmune adaptativo 2) Compartimento efector, el cual consiste en la lámina propia, donde los linfocitos

que tienen experiencia con antígenos migran de y hacia el epitelio donde se encuentran los linfocitos intraepiteliales (Neutra y Kowloszki, 2006; Turner, 2009; Williams y col. 2015).

Las células epiteliales están en contacto con los linfocitos de lámina propia (LPL) a través de los poros de membrana. Los linfocitos intraepiteliales (IEL) están estrechamente unidos entre las células epiteliales, por encima de la zona de la membrana basal. Las células epiteliales intestinales están predispuestas a actuar como células presentadoras de antígeno, activando los linfocitos T CD8+ vía MHC clase I, o como células presentadoras de antígeno, vía MHC clase II en orden de estimular las células T CD4+. Otra interacción entre las células epiteliales y los linfocitos es la gran influencia de las células epiteliales sobre el transporte de linfocitos. (Steiner, 2008). Estos linfocitos circulantes aumentan en número en determinadas horas del día y la noche, lo que es más pronunciado en las células T CD4+ y células B, pero menos constante o ausente en las células T CD8+ (Cermakian, 2013).

Las células epiteliales actúan como sensores de microorganismos a través de los receptores de reconocimiento de patrones TLR, respondiendo mediante señales de citoquinas a células adyacentes como las células dendríticas y macrófagos, para desencadenar defensas no específicas y promover la respuesta inmune adaptativa.

En la enfermedad de Crohn, estas uniones estrechas o "tight junctions" se encuentran alteradas (Moe, 1960; Farquhar y Palade, 1963; Turner, 2007; Williams y col., 2014), sobre todo, debido a cambios en la expresión y distribución de proteínas ocludinas, claudinas y proteínas de la zónula occludens que producen disfunción estructural (Wilke, 2012).

Protección inmunoadaptativas de las superficies mucosas superficiales.

Está caracterizada por la presencia de inmunoglobulina IgA, anticuerpos que son resistentes a la degradación de este ambiente lleno de proteasas que tiene la superficie mucosa. Esta resistencia viene dada por su asociación con fragmentos glicosilados derivados de un receptor polimérico epitelial de inmunoglobulinas que media en el transporte de IgA a través de las células epiteliales hacia el lumen (Neutra y Kozlowski, 2006).

La inmunoglobulina A promueve la captura de antígeno o microorganismos en la mucosa. Los fluidos intersticiales que subyacen la barrera epitelial contienen esta IgA, la cual puede prevenir la infección de las mucosas (Neutra y Kozlowski, 2006).

Un nuevo receptor específico para la IgA ha sido identificado en la superficie apical de las células M (células de microfold) que pueden mediar en la captación de IgA luminal dentro de las placas de Peyer, facilitando la recogida de complejos inmunes lumbales mediante el sistema inmune mucoso (Neutra y Kozlowski, 2006; Artis, 2008).

Un epitelio especializado cubre el folículo linfoide mucoso, el cual contiene un tipo de células epiteliales especiales, las células M (Owen y Jones, 1974; Mowat y Viney, 1997). La diferenciación de las células M está inducida mediante citoquinas de tejidos linfoides organizados de la mucosa (MALT). La mayor función de las células M es el transporte de macromoléculas, partículas y microorganismos a través de la barrera epitelial desde el lumen a los tejidos linfoides organizados. (Liebler-Tenorio y Pabst, 2005; Smith y col, 2013).

La principal característica de las células M es la invaginación de su superficie basal para formar un bolsillo intraepitelial que contienen linfocitos y células dendríticas activadas. Además, las células M presentan una superficie apical que promociona la adherencia de los microorganismos, y una membrana proteica basolateral que proporciona que los linfocitos se

anclan en el bolsillo intraepitelial. Después de la adherencia, los antígenos o patógenos son endocitados mediante unas células reticulares llamadas células Dendríticas (Steinmann y Cohn, 2007; Junginger, 2014; Devi Sanjana y Anandasabapathy, 2017). Las células M y su actividad de transporte transepitelial en las placas de peyer son fundamentales para proteger el organismo (Owen y col., 1986; Mabbot y col., 2013) permitiendo además la entrada de patógenos dentro de la mucosa para provocar enfermedad, pudiendo utilizarse además en la administración de vacunas (Brayden y col., 2005; Smith y col., 2013).

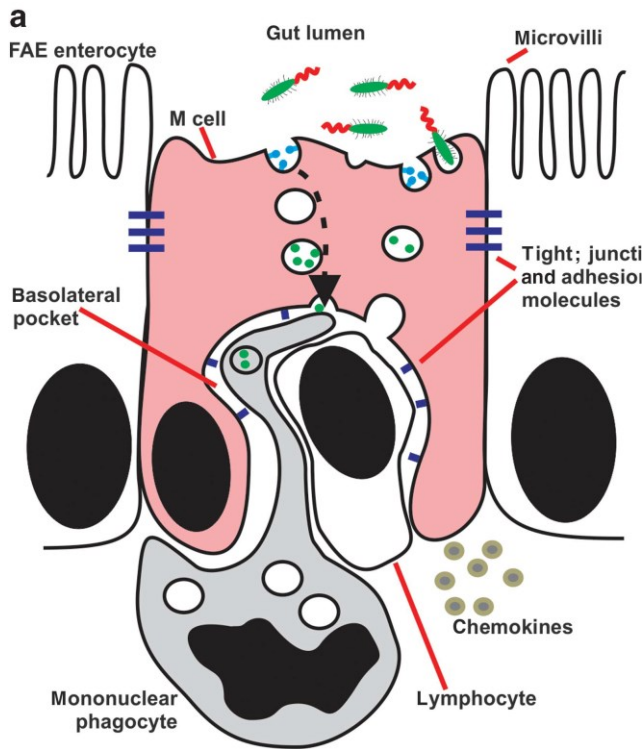


Figura 3. Características morfológicas de las células M: Diagrama que muestra sus características morfológicas (Mabbott y col., 2013).

De esta manera, las Células M representan “puertas” para los antígenos, transportando bacterias intactas sin dañarlas. Se postulan tres posibles mecanismos en orden a penetrar en el epitelio intestinal: 1) Las placas de Peyer asociadas a células M recogen el antígeno, seguido del reparto directo a las células presentadoras de antígeno tales como células dendríticas o macrófagos localizados en las placas de Peyer 2) Las vellosidades de las células M hacen la recogida seguida del reparto a las células presentadoras de antígeno localizadas en la lámina propia 3) Toma de antígenos mediante células epiteliales intestinales seguido por la presentación de antígenos a linfocitos vía MHC clase I ó clase II. (Rescigno, 2001; Artis, 2008; Steiner, 2008). La expresión más intensa de MHC clase II en enterocitos caninos se observa en áreas de criptas de yeyuno e íleon (German y cols., 1998; German y cols. 2001). En el caso de los linfocitos, estos pueden ser encontrados embebidos en el epitelio como linfocitos intraepiteliales o dispersos a través de la lámina propia (LPL). Muchos de los linfocitos intraepiteliales pertenecen a subgrupos de células T. Estos linfocitos difieren substancialmente de los linfocitos periféricos con respecto a su fenotipo, función y ontogenia. La mayoría de los

LPL pertenecen a un subgrupo convencional de linfocitos T que tienen un gran parecido con los linfocitos periféricos. Los LPL maduran en sitios inductivos de la mucosa intestinal tales como las placas de Peyer o los nódulos linfoides.

3.5.4.-DIAGNOSTICO DE LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

Aunque los hallazgos en el examen físico y los signos clínicos pueden sugerir una enfermedad inflamatoria intestinal, la biopsia intestinal es el mecanismo diagnóstico final (Ettinger y Feldman, 2007; Steiner, 2008). Desde que el término enfermedad inflamatoria intestinal idiopática se restringe a casos en los que la inflamación intestinal está presente sin otras causas subyacentes, todas las demás etiologías deben excluirse ante un diagnóstico de enfermedad inflamatoria intestinal. Aunque antes de la biopsia es importante la evaluación laboratorial y el diagnóstico por imagen. Tales investigaciones no se realizan para proveer de un diagnóstico definitivo sino para eliminar la posibilidad de enfermedad extra-intestinal (pancreatitis, hipoadrenocorticism, fallo renal y hepático), enfermedad intestinal anatómica (tumor o intususcepción), o causas conocidas de inflamación intestinal (Ettinger y Feldman, 2007; Steiner y Allenspach, 2008). Por lo tanto, el diagnóstico de enfermedad inflamatoria intestinal no puede centrarse solamente en la base de los hallazgos histológicos, sino que debe usarse otras herramientas tales como la clínica, patogenia, imagen, patofisiología (función de los enterocitos, respuesta inmune, cambios en la motilidad), en conjunción con hallazgos histológicos (Steiner, 2008; Washabau, 2010; Wahabau y Day, 2013).

Perfil bioquímico sérico

El perfil bioquímico sérico es normal para muchos pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal. Sin embargo, existen pruebas que pueden reconocer a pacientes aquejados con la enfermedad. La hipoalbuminemia e hipoglobulinemia son características de enteritis por pérdida de proteínas (Steiner, 2008; Day y Washabau, 2013), mientras que la hipocolesterolemia sugiere malabsorción (Steiner, 2008; Day y Washabau, 2013). En algunos casos se observa inflamación intestinal que produce hepatopatía reactiva con moderado aumento de la actividad de las enzimas hepáticas (alanina transaminasa y fosfatasa alcalina). Se han identificado gatos con enfermedad inflamatoria intestinal y colangitis (Steiner, 2008), que muestran elevados niveles de aspartato aminotransferasa, normalmente secundario a linfoma alimentario más que a enfermedad inflamatoria intestinal (Day y Washabau, 2013).

Examen fecal

Para descartar parásitos se realiza examen fecal mediante técnicas de flotación (Steiner, 2008) aunque en muchos casos de EII de intestino delgado da resultados negativos (Day y Washabau, 2013). Así, nematodos (eg. *Trichuris*, *Uncinaria*, o *Ancilostoma*) y *Giardia* puede ser diagnosticada mediante frotis fecal y/o flotación. En cualquier caso, la parasitología fecal no siempre es efectiva recomendándose el tratamiento empírico con fenbendazol en todos los casos (Ettinger y Feldman, 2007). El cultivo para bacterias patógenas tales como *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, o *Clostridium spp* es más problemático puesto que puede aparecer en las heces de animales sanos y su presencia en pacientes con EII no necesariamente prueba su relación causal. (Steiner, 2008).

Folato sérico y concentración de cobalamina

Se ha documentado bajas concentraciones de folato (inflamación proximal), de cobalamina (inflamación distal), o de las dos (inflamación difusa) (Ettinger y Feldman, 2007; Steiner, 2008). La concentración sérica de estas vitaminas solubles en agua, están afectadas por malabsorción intestinal proximal, distal o difusa. La inflamación de intestino delgado puede resultar en disminución de la concentración de ambas. Aunque tales alteraciones no son patognomónicas de IBD, pueden requerir corrección terapéutica. En particular, la deficiencia en cobalamina que puede causar disfunción intestinal. Existen evidencias que sugieren que la respuesta a terapia inmunosupresiva para la EII puede ser subóptima hasta que se resuelva la deficiencia en cobalamina (Steiner, 2008)

Estudios por imagen

Normalmente los estudios radiográficos y ultrasonográficos documentan si hay lesión focal o difusa (Ettinger y Feldman, 2007; Steiner, 2008). Esta información permite una elección apropiada para los métodos de biopsia (endoscopia alta y baja, o laparotomía exploratoria)

Las radiografías son útiles para identificar la localización anatómica de la enfermedad, aunque los estudios de contraste rara vez aportan más información. La ultrasonografía abdominal en pacientes con EII permite visualizar la dilatación luminal, así como la relación de linfadenopatía mesentérica con aumento del grosor de la pared intestinal (Ettinger y Feldman, 2007; Steiner y Allenspach, 2008). Algunos autores han relacionado este aumento a la hipoproteïnemia producida en pacientes con enteropatía con pérdida de proteínas, la cual causa edema de la pared intestinal (Steiner, 2008; Craven y Washabau, 2019). Aunque otros autores sugieren que este aumento es más indicativo de neoplasia que de enfermedad inflamatoria intestinal. (Steiner, 2008, Craven y Wahabau, 2019).

BIOPSIA INTESTINAL

La biopsia intestinal mediante endoscopia o celiotomía exploratoria es necesaria para el diagnóstico de EII (Steiner, 2008; Day y Washabau, 2013). El método más sencillo y menos invasivo de recolección de muestras es la biopsia endoscópica, pero entre sus desventajas se incluyen un acceso anatómico limitado, falta de profundidad y fragmentación de las muestras, así como la experiencia del operador para la evaluación de la mucosa y la recolección del tejido muestral que impacta (Steiner, 2008; Gieger, 2011; Willard y cols., 2010; Washabau, 2013; Jergens, 2016). De esta manera, algunos autores comentan la diferencia de grosor de la mucosa duodenal del gato frente al perro (Willard y cols., 2001, 2008). Debido a la subjetividad en la evaluación del grosor y los cambios macroscópicos (granularidad, irregularidad, friabilidad) asociados con erosión, ulceración y hemorragia (Steiner y Allenspach, 2008, Day y cols., 2008, Willard y cols., 2010), se antoja que la celiotomía exploratoria y la biopsia de espesor completo están más indicadas, sobre todo en gatos donde, hay tendencia a obtener muestras de tamaño muy pequeño (Steiner, 2008; Gieger, 2011; Day y Washabau, 2013; Jergens, 2016).

La apariencia endoscópica de la mucosa intestinal puede dar algunas pistas de la presencia de inflamación intestinal. De esta forma, un aumento de la granularidad, irregularidad y friabilidad, con la presencia de erosión, ulceración y hemorragia espontánea son marcadores potenciales de la EII. Sin embargo, la interpretación de la apariencia de grosor de la mucosa es bastante subjetiva, y los cambios macroscópicos no están siempre presentes a pesar de que exista evidencia histológica o bastante marcada de inflamación. Además, cambios similares han sido

descritos en otras enfermedades intestinales, especialmente en el caso de neoplasia intestinal. (Steiner y Allenspach, 2008)

Los esquemas de puntuación histopatológico y los criterios estándar de diagnóstico han sido utilizados como medio para mejorar la marcada variabilidad en la interpretación de la EII que todavía persiste. La WSAVA (World Small Animal Veterinary Association), ha establecido un intento por resolver estas inconsistencias desarrollando un esquema estándar que evalúa las anomalías arquitectónicas en conjunción con los cambios en la celularidad (Steiner, 2008; Day y cols., 2008; Jergens y cols., 2014; Jergens y cols. 2016). Con esta estandarización, el clínico deberá interpretar los resultados histopatológicos cuidadosamente y tratar de relacionar estos resultados con la presentación clínica (Day y Washabau, 2013). De esta manera, se puede cuantificar la severidad de la enfermedad, y establecer el tratamiento adecuado según la gravedad de la EII.

3.5.5.- DIAGNOSTICO DIFERENCIAL

Las causas de inflamación crónica intestinal son variadas, pero destacan las causadas por:

- a) **Giardiasis:** La infección por *Giardia spp* imposibilita función de intestino delgado. Estos colonizan gran cantidad de vertebrados, incluyendo humanos que se infectan de manera zoonótica por perros, gatos, vacunos y caballos. El protozoo se adhiere por su parte ventral a la microvellosidad intestinal y a las criptas de Lieberkühn. Los quistes son resistentes y pasan a las heces y a otros seres vivos mediante transmisión fecal-oral. La diarrea crónica intermitente es la clínica más común en perros y gatos jóvenes, siendo las heces pálidas, mucoides y grasientas. Los enfermos presentan pérdida de peso y disminución de crecimiento sugiriendo una malabsorción. (Steiner, 2008)
- b) **Histoplasmosis:** Producido por *Histoplasma spp*. Este microorganismo de distribución mundial se ubica sobre todo en suelo. La inhalación o ingestión de esporas dan lugar a lesiones gastrointestinales, hepáticas y esplénicas. Se produce sobre todo en perros jóvenes, cursando con pérdida de peso, linfadenopatía, diarrea sanguinolenta y tenesmo. Afecta principalmente a estómago e intestino delgado, con necrosis y ulceración de sus mucosas. (Steiner, 2008)
- c) **Prototheca:** Algas transparentes que actúan como parásito oportunista. Encontrada ubicuamente, se ve en agua de alcantarillado tratada y en heces. En perros afecta a intestino y ojo, mientras que en gatos puede causar infección cutánea. Cursa con diarrea crónica y sanguinolenta, conductos lácteos distendidos y progresivo aumento de linfocitos que luego se diseminan por toda la lámina propia intestinal.
- d) **Toxoplasmosis:** Se produce en gatos tras la ingestión de ooquistes que desarrollan mecanismos inmunes celulares y humorales. Después de la ingestión, penetran en la mucosa intestinal, y desde el intestino puede extenderse a través de los linfocitos de los nódulos linfáticos regionales y conducto torácico hasta los pulmones.
- e) **Micobacterium:** La micobacteria se distribuye en la naturaleza, algunas son saprofitas y patógenos oportunistas, y otros son parásitos. La tuberculosis estricta está causada por *M. tuberculosis* o *M. bovis*. Las lesiones de tuberculosis son principalmente granulomatosas. Los gatos son más susceptibles a *Mycobacterium bovis*, y se infectan por ingestión de leche contaminada o por especies silvestres. Los perros son más susceptibles a *M. bovis* y *M. paratuberculosis* y menos a *M. avium*. La lesión aparece discretamente como un acúmulo de células epitelioides rodeada de tejido fibroso, con abundancia de linfocitos y células plasmáticas.

- f) **Pythium:** *Pythium insidiosum* causa la pitiosis en hombre, perro y gato. Su presentación clínica varía entre especies, aunque es potencialmente fatal en todas ellas. Está caracterizada principalmente por dos lesiones en caninos i) lesión necro-eosinofílica caracterizada por una gran zona de necrosis eosinofílica, colagenólisis y número variable de eosinófilos con abundancia de hifas esparcidas y rotas dentro del granuloma. ii) Lesión de macrófagos epitelioides y células gigantes de Langhans, rodeados por una capsula delgada de tejido conectivo. En tracto gastrointestinal afecta a una o todas las capas (Martins y cols., 2012).
- g) **Campylobacter:** Produce enteritis y colitis mucosa asociada con *C. jejuni* no invasivo y está asociada a proliferación adenomatosa del epitelio de las criptas de Lieberkühn en el intestino delgado (especialmente en íleon) y en glándulas mucosas en intestino grueso (Barker y Van Dreumel, 1993).
- h) **Salmonella:** El desequilibrio de la microflora normal puede permitir el establecimiento de cepas patógenas entero-tóxicas. Las bacterias entero-invasivas producen inflamación aguda y causa daño en la mucosa.
- i) **E. Coli:** Ciertas cepas tienen la capacidad de unirse al epitelio del intestino delgado mediante el "pili" permitiendo la colonización como ocurre en la enfermedad de Crohn (Jubb y col, 1985, Smith y col, 2013). Algunos autores sugieren que, para sobrevivir en un medioambiente tan extremo, la bacteria ha desarrollado un mecanismo en que la acidez del pH constituye un factor que activa la virulencia de sus genes (Smith y col, 2013).
- j) **Linfoma:** Los gatos con enfermedad inflamatoria intestinal difieren de aquellos con linfoma alimentario con respecto de eventos inmunológicos (por ejemplo, producción de citoquinas) dentro de la mucosa intestinal. La ausencia de expresión de MHC class II por los enterocitos en el caso de linfoma alimentario contrasta por tanto con la inducción de esta molécula en el epitelio de gatos con enfermedad inflamatoria intestinal donde está sobrerregulada (Waly y col., 2005).
- k) **Linfangiectasia :** En general, la linfangiectasia en gatos es menos frecuente que en perros (Peterson y Willard, 2003). Puede ser un desorden congénito o adquirido. El primero con una susceptibilidad por determinadas razas como Yorkshire, Maltese, terriers o Shar-pei (Simmerson y cols., 2014). En los desordenes adquiridos ocurren como resultado de bloqueo linfático por lesiones neoplásicas, infiltrado inflamatorio, por elevada presión venosa, fallo cardiaco congestivo o hipertensión portal. En perros, la linfangiectasia y la linfangitis producen enteropatía por pérdida de proteínas por la obstrucción de conductos linfáticos, o la liberación de mediadores celulares que afectan a la permeabilidad vascular (Craven y Washabau 2019). La presentación clínica incluye fiebre y dolor abdominal. En su histología se observa células gigantes multinucleadas, neutrófilos, macrófagos e infiltrado linfoplasmocítico que rodea los conductos linfáticos.

Clasificación histopatológica de enfermedad inflamatoria intestinal idiopática

| Descripción histopatológica | Comentario |
|--|--|
| Enteritis linfoplasmocitaria ELP | Forma más común |
| Enteropatía en Basenji | Posible variante en ELP Enteritis linfoplasmocitaria |
| Enteritis linfoplasmocitaria en Wheaten Terriers linfoplasmocitaria | Posible variante en ELP enteritis |
| Colitis linfoplasmocítica | Puede ocurrir en aislamiento o con enteritis linfoplasmocitaria |
| Enteritis eosinofílica, Gastroenteritis eosinofílica, enterocolitis eosinofílica, gastroenterocolitis eosinofílica | Marcado aumento en eosinófilos |
| Enteritis granulomatosa | Enfermedad idiopática rara, pero reportada como secuela de infección de FIP en gatos |
| Enteritis regional | La misma es posible como enteritis granulomatosa |
| Enteritis neutrofilica | Rara en perros, no es común en gatos |
| Colitis ulcerativa histiocítica | Más común en Boxer, etiología potencialmente infecciosa |

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

El material del presente estudio consistió en muestras intestinales procedentes de perros y gatos de diferente sexo y raza procedentes del Hospital de Pequeños Animales de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria y el Hospital veterinario de la Universidad de Córdoba (Tablas 1 y 2). Las muestras fueron recolectadas siguiendo la aprobación del comité ético de la comisión de Medicina Veterinaria de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (acuerdo MV-2017/05). El estudio comprende aquellas muestras obtenidas desde Abril de 2016 hasta Agosto de 2018, siguiendo los siguientes criterios: signos clínicos consistentes con Enfermedad Inflamatoria Intestinal, signos gastrointestinales persistentes (más de 3 semanas de duración), fallos en la respuesta a la dieta (dietas comercialmente digestibles frente a un antígeno o dietas caseras) o a terapias sintomáticas, exclusión de otras causas tales como insuficiencia pancreática exocrina, agentes infecciosos, endoparásitos, neoplasias o enteropatías de respuesta frente a alimentos o antibióticos; y evidencia histológica de infiltrado inflamatorio dentro de lámina propia de muestras de intestino delgado y grueso siguiendo el sistema de evaluación de la WSAVA (Jergens et al., 2014).

Tabla 1. Perros: Raza, género, localización y técnica de muestreado.

| Raza | Sexo | Localización Muestras | Técnica de Muestreado |
|-------------------|--------|-----------------------|-----------------------|
| Podenco Canario | Hembra | Duodeno | Laparatomia |
| Podenco Canario | Hembra | Duodeno | Laparatomia |
| Podenco Canario | Hembra | Colon | Laparatomia |
| Golden Retriever | Macho | Duodeno | Laparatomia |
| Yorkshire Terrier | Macho | Duodeno | Laparatomia |
| Rottweiler | Macho | Duodeno | Laparatomia |
| Yorkshire Terrier | Hembra | Duodeno | Endoscopia |
| Rottweiler | Macho | Colon | Laparatomia |
| Schnauzer Mini | Macho | Duodeno | Laparatomia |
| Pastor Alemán | Hembra | Duodeno | Laparatomia |
| Bulldog Inglés | Macho | Duodeno | Laparatomia |
| Pastor Alemán | Hembra | Colon | Laparatomia |
| Mestizo | Macho | Colon | Laparatomia |
| Yorkshire Terrier | Macho | Colon | Laparatomia |
| Mestizo | Hembra | Duodeno | Laparatomia |
| Bulldog Francés | Macho | Colon | Laparatomia |
| Pastor Alemán | Macho | Duodeno | Laparatomia |
| Boxer | Hembra | Colon | Laparatomia |
| Mestizo | Macho | Colon | Laparatomia |
| Bulldog Inglés | Hembra | Recto | Laparatomia |
| Chihuahua | Hembra | Duodeno | Laparatomia |

| | | | |
|-----------------------|--------|---------------|--------------|
| Pastor Alemán | Macho | Duodeno | Laparatomia |
| Labrador Retriever | Macho | Duodeno | Laparatomia |
| Mestizo | Hembra | Colon | Laparatomia |
| Schnauzer Mini | Hembra | Colon | Laparascopia |
| Boxer | Macho | Colon | Endoscopia |
| Mestizo | Macho | Colon | Endoscopia |
| Mestizo | Macho | Colon | Endoscopia |
| Labrador Retriever | Macho | Duodeno | Endoscopia |
| Yorkshire Terrier | Macho | Colon | Endoscopia |
| Labrador Retriever | Hembra | Recto | Endoscopia |
| Boston Terrier | Hembra | Duodeno | Endoscopia |
| Podenco Canario | Macho | Duodeno | Endoscopia |
| Mestizo | Macho | Duodeno | Endoscopia |
| Bulldog Francés | Macho | Colon | Endoscopia |
| Mestizo | Macho | Duodeno | Endoscopia |
| Staffordshire Terrier | Hembra | Colon y Recto | Endoscopia |
| Mestizo | Macho | Duodeno | Endoscopia |
| Yorkshire Terrier | Macho | Ileón | Endoscopia |
| Border Collie | Hembra | Colon | Endoscopia |
| Bulldog Francés | Hembra | Duodeno | Endoscopia |
| Mestizo | Hembra | Colon | Endoscopia |
| Bulldog Francés | Hembra | Duodeno | Endoscopia |
| Beagle | Macho | Duodeno | Endoscopia |
| Podenco Canario | Macho | Colon | Endoscopia |
| Pug | Hembra | Yeyuno | Endoscopia |
| Pitbull | Macho | Colon | Endoscopia |
| Perro Presa Canario | Macho | Duodeno | Endoscopia |
| Mestizo | Hembra | Yeyuno | Endoscopia |
| Labrador Retriever | Macho | Colon | Endoscopia |
| Mestizo | Macho | Recto | Endoscopia |
| Pug | Macho | Recto | Endoscopia |
| Beagle | Hembra | Duodeno | Endoscopia |
| Bulldog Francés | Macho | Duodeno | Endoscopia |
| Bulldog Francés | Macho | Duodeno | Endoscopia |
| Bulldog Francés | Macho | Colon | Endoscopia |
| Mestizo | Hembra | Duodeno | Endoscopia |
| Chihuahua | Macho | Duodeno | Endoscopia |
| Mastin Tibetano | Macho | Recto | Endoscopia |
| Yorkshire Terrier | Macho | Duodeno | Endoscopia |
| Pastor Alemán | Male | Ciego | Endoscopia |
| Yorkshire Terrier | Hembra | Duodeno | Endoscopia |
| Yorkshire Terrier | Hembra | Duodeno | Endoscopia |
| Mestizo | Hembra | Duodeno | Endoscopia |

Tabla 2. Gatos: Raza, género, localización y técnica de muestreo.

| Raza | Género | Localización Muestra | Técnica de Muestreo |
|-----------------------|--------|----------------------|---------------------|
| Europeo de Pelo Corto | Macho | Colon | Laparatomia |
| Siames | Macho | Duodeno | Laparatomia |
| Siames | Hembra | Duodeno | Laparatomia |
| Europeo de Pelo Corto | Macho | Colon | Laparatomia |
| Sphynx | Macho | Duodeno | Endoscopia |
| Europeo de Pelo Corto | Hembra | Duodeno | Laparatomia |
| Europeo de Pelo Corto | Macho | Duodeno | Endoscopia |
| Europeo de Pelo Corto | Macho | Colon | Endoscopia |
| Europeo de Pelo Corto | Hembra | Colon | Laparatomia |
| Persa | Hembra | Duodeno | Laparatomia |
| Europeo de Pelo Corto | Hembra | Duodeno | Endoscopia |
| Europeo de Pelo Corto | Hembra | Colon | Laparatomia |
| Persa | Hembra | Colon | Laparatomia |
| Europeo de Pelo Corto | Hembra | Duodeno | Laparatomia |
| Europeo de Pelo Corto | Hembra | Duodeno | Laparatomia |
| Persa | Hembra | Duodeno | Endoscopia |
| Europeo de Pelo Corto | Macho | Duodeno | Laparatomia |
| Europeo de Pelo Corto | Macho | Duodeno | Laparatomia |
| Sphynx | Hembra | Duodeno | Laparatomia |
| Siames | Macho | Duodeno | Laparatomia |

Como grupo control se utilizaron siete perros y cuatro gatos que estaban libres de signos gastrointestinales en uno o más exámenes clínicos, y que presentaban análisis hematológicos y bioquímicos normales, así como ausencia de parásitos en los exámenes fecales (Tablas 3 y 4).

Tabla 3a. Muestras de tejido de intestino delgado de perros sanos

| Muestras | Intestino Delgado | L.D. | C.D. | VEI | MSQ | VS | M.F. | IEL | LPI |
|----------|-------------------|------|------|-----|-----|----|------|-----|-----|
| 1 | Duodeno | + | - | + | + | - | - | + | + |
| 9 | Duodeno | + | + | + | + | - | + | + | + |
| 42 | Duodeno | + | - | - | - | - | + | + | + |
| 65 | Duodeno | + | - | - | + | - | + | + | + |

Abbreviations: LD: Dilatación lacteal; CD:Distensión de riptas; VEI: Lesión epitelial de vellosidad; MSQ: Descamación metaplásica ; VS: Atrofia de vellosidad; MF:Fibrosis mucosa; IEL: Linfocitos intraepiteliales; LPI: Infiltrado de lámina propia.

Tabla 3b Muestras de tejido de intestino grueso de perros sanos

| Muestra | I.G. | LD IG | CD IG | Lesión epitelial IG | MSQ IG | VS IG | Fibrosis IG | IEL | LP Inf. |
|---------|-------|-------|-------|---------------------|--------|-------|-------------|-----|---------|
| 46 | Colon | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 57 | Colon | - | - | + | + | - | + | + | + |
| 62 | Cecum | + | - | - | - | - | + | + | + |

Abbreviations: LD: Dilatación Lacteal; CD: Distensión de las criptas; VEI: Lesión epitelial de vellosidad; MSQ: Descamación metaplasica; VS: Atrofia de la vellosida; MF: Fibrosis Mucosa; IEL: Linfocitos intraepiteliales; LPI: Infiltrado de lámina propia.

Tabla 4. Muestras de tejido de intestino delgado y grueso de gatos sanos

| Raza | Localización Muestra | LD | CD | VEI | MSQ | VS | MF | IEL | LPI |
|-----------------------|----------------------|----|----|-----|-----|----|----|-----|-----|
| Persa | Duodeno | + | + | - | - | - | - | - | - |
| Europeo de Pelo Corto | Duodeno | - | - | - | - | - | + | - | - |
| Europeo de Pelo Corto | Duodeno | + | - | - | - | - | + | - | - |
| Sphynx | Colon | - | - | - | + | - | + | - | - |

Abbreviations: LD: Dilatación lacteal; CD: Distensión de criptas; VEI: Lesión epitelial vellosidad; MSQ: Descamación metaplasica; VS: Atrofia vellosidad; MF: Fibrosis Mucosa; IEL: linfocitos Intraepiteliales; LPI: Infiltrado de Lámina propia

Datos de actividad clínica

Para evaluar la actividad clínica de la enfermedad, se realizó una valoración de los síntomas de intestino delgado como vómitos, diarrea, anorexia (como trastornos del apetito) y pérdida de peso, así como síntomas de intestino grueso como hematoquecia y heces mucoides presentes en los informes clínicos.

Examen histopatológico

Para realizar la evaluación histopatológica se utilizaron muestras de biopsia del intestino delgado y grueso de animales enfermos. Previamente a la realización de la biopsia, se procedía a pesar el animal, para después verificar la edad y sexo. La biopsia se realizó recogiendo muestras intestinales de espesor completo. No en todas las muestras se pudo recoger muestras completas de todas las localizaciones intestinales (duodeno, yeyuno, ciego, colon y recto).

Procesamiento de muestras para histología

Las muestras recogidas durante la biopsia procedentes de diferentes áreas del intestino fueron inmediatamente fijadas en una solución tamponada de formol al 10%. La duración de esta etapa de fijación fue como mínimo de 24 horas. Posteriormente, las muestras fueron talladas para su introducción en cassettes, identificadas con la referencia correspondiente al número de biopsia, y sometidas nuevamente a fijación durante un periodo de entre 12 y 48 horas, para después incluirlas en parafina según la técnica rutinaria que se detalla a continuación:

1. Alcohol etílico 70% I 4,30 h.
2. Alcohol etílico 70% II 2 h.
3. Alcohol etílico 80% 1 h.
4. Alcohol etílico 96% 3 h.
5. Alcohol etílico 100% I 1 h.
6. Alcohol etílico 100% II 1h.
7. Benzoato de metilo 30 min.
8. Bioclear I 45 min.
9. Bioclear II 30 min.
10. Paraplast I 2 h.
11. Paraplast II 3, 30 h.
12. Paraplast V 1 h.

El medio de inclusión empleado (Paraplast) posee un punto de fusión de 55-57 °C. La inclusión se realizó de manera automática con un inclusor Histokinette. La confección de los bloques de parafina se realizó mediante una unidad formadora de bloques. Las piezas incluidas en Paraplast se cortaron con un microtomo de rotación al que se acoplaron cuchillas desechables. El grosor de las secciones histológicas oscilaba entre 4-6 μm .

Una vez obtenidos estas secciones del microtomo, los cortes histológicos se depositaron en un baño caliente, a 37 °C, para poder extenderlos. Posteriormente, estos tejidos se recogieron en portas que habían sido desengrasados con etanol de 96%-CIH, para más tarde recubrirlos con alguna de las siguientes sustancias adhesivas para evitar su desprendimiento.

-Albúmina glicerizada de Mayer: Adhesivo utilizado en las preparaciones procesadas rutinariamente para histología.

-Poli-L-lisina. Adhesivo utilizado en las preparaciones inmunohistoquímicas.

Técnicas de tinción

Hematoxilina-Eosina

El proceso de tinción se llevó a cabo según los pasos detallados a continuación:

1. Desparafinar en Bioclear 10 min x 2.
2. Hidratar en una batería de alcoholes de graduación decreciente.
3. Lavar en agua corriente 5 min.
4. Hematoxilina de Mayer (tiempo según la maduración).
5. Lavar en agua corriente, 10 min.
6. Eosina Y al 1%, 1 min.
7. Deshidratación en alcohol etílico de 96% y 100%, 5 min x 2.
8. Aclaramiento en Bioclear, 3 min x 2.
9. Montaje de los cortes histológicos con Eukitt

El examen histopatológico se basó en los hallazgos morfológicos e inflamatorios identificados en el sistema histológico estándar del grupo de Estandarización Gastrointestinal de WSAVA, así como en las modificaciones realizadas por Jergens et al., 2014. Por lo tanto, para las muestras de intestino delgado y grueso, las principales características morfológicas elegidas fueron la atrofia de las vellosidades, la lesión epitelial, la distensión de las criptas, la dilatación de los conductos linfáticos, la descamación, la fibrosis de la mucosa, así como la infiltración de linfocitos en epitelio intestinal y lámina propia.

Examen inmunohistoquímico

Los nódulos linfoides mesentéricos fueron utilizados como tejidos control para la examinación inmunohistoquímica por el método avidina-biotina-peroxidasa (ABC) descrito por Jaber et al. (2013). La actividad de la peroxidasa endógena fue bloqueada mediante incubación utilizando 0.3 por ciento de peróxido de hidrogeno en metanol durante 30 minutos. Se procedió a la incubación en 0.01 por ciento de pronasa (Sigma Chemicals) durante 10 minutos a temperatura ambiente (CD3 y S-100) o retirada de antígeno inducida mediante calor (baño de calor durante 98°C) durante 10 minutos (CD68 y CD45).

Después de la retirada de antígeno, las secciones de tejido fueron posteriormente lavadas tres veces durante 10 minutos en 0.01 M de solución tampón fosfato (PBS), pH 7.2 e incubadas con 10 por ciento de suero de conejo o cabra (Vector Laboratories) durante 30 minutos a temperatura ambiente.

Después de los lavados fue aplicado un anticuerpo anti-conejo de cabra biotinilado (IgG) diluido 1:200 en PBS (Vector Laboratories), durante 30 minutos como reactivo secundario para los anticuerpos policlonales primarios (pAbs), y una inmunoglobulina anti-ratón biotinilada de conejo diluida 1:50. Se aplicó PBS (Dako) durante 30 minutos como reactivo secundario para los anticuerpos monoclonales primarios (mAbs), y un complejo ABC (Vector Laboratories) diluido 1:50 en PBS como tercer reactivo. Las secciones de tejido se incubaron luego con los cromógenos tetrahidrocloruro de 3,3'-diaminobenzidina (DAB, Sigma), se diluyeron al 0,035 por ciento en solución salina tamponada con Tris que contenía peróxido de hidrógeno al 0,01 por ciento o N-acetil-carbazol (AEC Sigma). Finalmente, las secciones se enjuagaron con agua del grifo, y se sometieron a contratinción de hematoxilina de Mayer, para después ser montadas con un medio de montaje permanente (Eukitt O. Kindler). Para fines de control negativo, los anticuerpos primarios específicos fueron reemplazados por PBS o suero no inmune de cabra o conejo. Se utilizaron secciones de tejido de intestino delgado y grueso de perros clínicamente normales y ganglios linfáticos mesentéricos como controles positivos. Las secciones de tejido inmunoteñidas se evaluaron con un fotomicroscopio y la densidad de las células inmunolabuladas fueron contadas por dos patólogos en 10 campos con un aumento de 640 x en dos portaobjetos en cada caso, los resultados se dieron de la siguiente manera: +/- 0 a 5 celdas por campo; +5 a 10 celdas por campo; ++ a 10 a 20 celdas por campo; +++ más de 20 celdas por campo.

Preparación de las muestras

Para las técnicas inmunohistoquímicas utilizaremos cortes de 3 µm de grosor montados en portas previamente lavados con alcohol clorhídrico y tratados con poli-L-lisina al 10% con el objeto de evitar su desprendimiento.

Desenmascaramiento de antígenos

Se realizó utilizando pronasa (Proteasa E, Sigma) en los cortes histológicos previamente desparafinados, con la finalidad de desenmascarar antígenos proteínicos durante la fijación. Los cortes son incubados durante 10 minutos a temperatura ambiente en la solución de pronasa al 0,1 % en PBS. Este proceso se llevó a cabo en anticuerpos anti-CD3, CD45 y CD68, mientras que en los anticuerpos anti-IgG se utilizó un pretratamiento con tampón citrato (ácido cítrico 0,1 M) y calentamiento en microondas durante 5 minutos.

Desarrollo de las técnicas inmunohistoquímicas

Estas técnicas se llevaron a cabo en perros y gatos con IBD. El protocolo para esta técnica inmunohistoquímica constaba de los siguientes pasos:

- 1.- Desparafinado mediante tres pases en xilol de 10, 5 y 5 minutos respectivamente.
- 2.- Inicio de la rehidratación mediante dos baños de 5 minutos cada uno en alcohol de 100°.
- 3.- Inhibición de la peroxidasa endógena por baño en solución de peróxido de hidrógeno al 3% en metanol durante 30 minutos en agitación suave. De esta manera se inhibe la peroxidasa endógena de los tejidos que puede enmascarar los resultados.
- 4.- Finalización de la rehidratación mediante baños de 5 minutos cada uno en alcoholes de 96 y 70° y agua destilada.

- 5.- Lavado con PBS pH 7,2 durante 5 minutos en agitación.
- 6.- Digestión enzimática con Pronasa (Sigma Chemical Company, St. Louis MO, USA) al 0,1% en PBS durante 10 minutos a temperatura ambiente.
- 7.- Tres lavados en PBS de 10 minutos.
- 8.- Incubación en cámara húmeda con suero normal de cabra al 5% en PBS durante 30 minutos a temperatura ambiente.
- 9.- Retirada del exceso de suero caprino e incubación durante 18 horas en cámara húmeda a 4°C con el anticuerpo primario diluido en PBS y suero normal de cabra al 5%.
- 10.- Tres lavados de 5 minutos en PBS.
- 11.- Los cortes se incuban con el anticuerpo secundario conjugado con biotina, diluido en PBS y suero normal de cabra al 5% durante 30 minutos a temperatura ambiente.
- 12.- Dos lavados de 5 minutos en PBS.
- 13.- Incubación de las muestras con el complejo Avidina-Biotina-Peroxidasa (ABC) diluido 1:50 en PBS en cámara húmeda durante 1 hora y en oscuridad.
- 14.- Tres lavados de 8 minutos en Tris Buffer Salino (TBS).
- 15.- La reacción fue revelada mediante un pase de 1 minuto en una solución fresca de Diaminobencidina (DAB) (Sigma Chemical Company, St. Louis MO, USA) al 0,035% en 200 ml. de TBS con presencia de peróxido de hidrógeno al 0,1%, sobre fondo blanco.
- 16.- Frenado de la reacción con agua corriente durante 10 minutos.
- 17.- Contratación con hematoxilina durante 1 minuto, deshidratación y montaje DPX (medio de montaje con Tolueno, Xileno, Di-n-Butilo Ftalato-Panreac, Química S. A., Barcelona) según el procedimiento habitual.

Controles negativos

Para la detección de reacciones inespecíficas se utilizaron controles negativos a partir de cortes seriados en los que los anticuerpos primarios fueron sustituidos por suero normal de cabra al 10% en PBS.

Controles positivos

Para comprobar que la técnica fue desarrollada correctamente se añadieron cortes control positivo con el correspondiente antígeno.

Análisis estadístico

Las lesiones y signos clínicos de los animales involucrados en esta investigación fueron expresadas como frecuencias y porcentajes. Estos porcentajes se compararon mediante la prueba de Chi-cuadrado. La significación estadística se estableció con un $p < 0,05$. Los valores en duodeno-yeyuno de intestino delgado, y ciego-colon-recto de intestino grueso se fusionaron para comprobar con precisión las correlaciones entre los signos clínicos y los hallazgos patológicos de animales con enfermedad inflamatoria intestinal.

Diagrama 1: Representación por sexo de pequeños animales (cánidos) diagnosticados de IBD

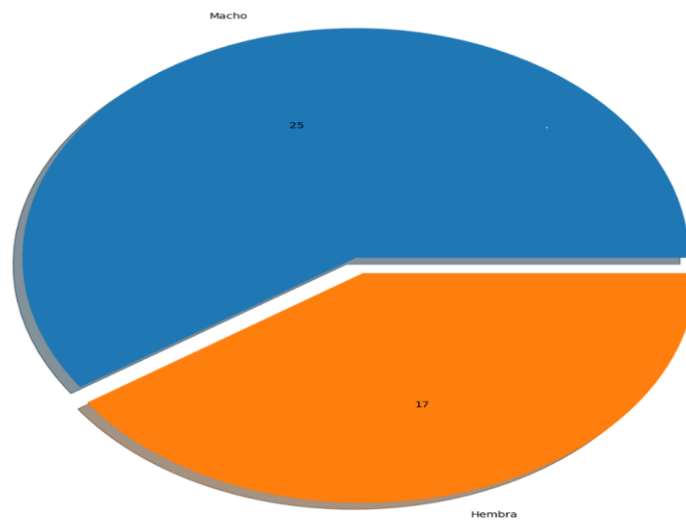
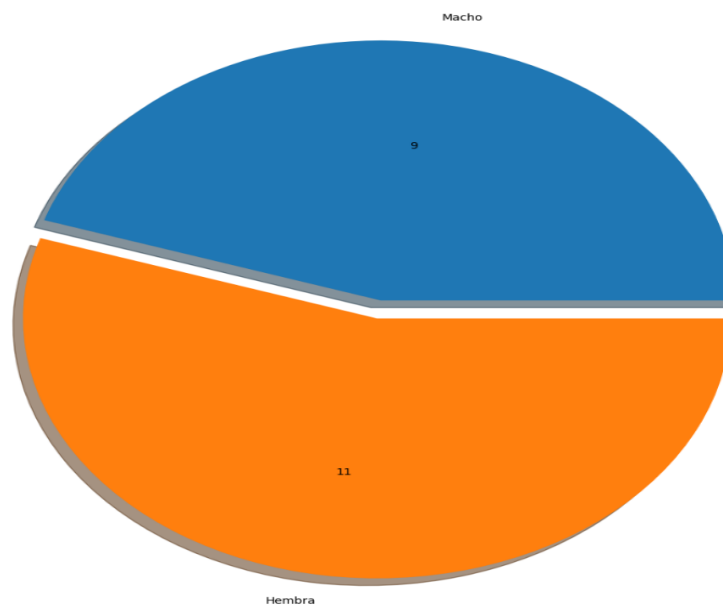


Diagrama 2: Representación por sexo de pequeños animales (felinos) diagnosticados de IBD



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CAPITULO 1

Correlación entre los datos clínicos e histopatología en perros y gatos afectados de IBD

Las lesiones histopatológicas y los signos clínicos de 53 perros y 20 gatos de diferentes razas y sexos con EII se muestran en la Tabla 1 y 2 (perros), y la Tabla 3 y 4 (gatos). La localización basada en las lesiones histopatológicas presentes en la biopsia de muestras de perros fue la siguiente: parte intestinal superior (n = 27 casos) que incluía duodeno (n = 24 casos), yeyuno (n = 2 casos) e íleon (n = 1 caso); y parte baja del intestino (n = 26 casos), con ciego (n = 2), colon (n = 17 casos) y recto (n = 7 casos). Estos pacientes presentaban lesiones histopatológicas muy variables. Por lo tanto, de acuerdo con las pautas de WSAVA, se encontró dilatación láctea en 37 de 53 animales, distensión de las criptas en 28 de 53 animales, 24 animales mostraron lesión epitelial de la vellosidad, descamación metaplásica se encontró en 23 de 53 animales, atrofia de la vellosidad solo en 14 animales y fibrosis de la mucosa en 35 animales en total (Fig. 1. a-d). En el caso de los gatos, la distribución de las lesiones histopatológicas presentes en las biopsias fue la siguiente: parte superior del intestino (n = 14 casos) que incluía duodeno (n = 14 casos); y parte intestinal baja (n = 6 casos), donde solo se detectaron lesiones de colon (n = 6 casos). Entre estos casos, se identificó dilatación láctea en 12 de cada 20 gatos, Se encontró distensión de las criptas en 14 de 20 animales, 8 gatos mostraron lesiones epiteliales de la vellosidad, se encontró descamación en 10 de 20 animales, mientras que se identificaron atrofia de la vellosidad y fibrosis de la mucosa en 3 y 17 gatos, respectivamente.

Tabla 1. Evaluación histopatológica de intestino delgado y grueso de perros con EII

| | LD | CD | VEI | SQ | VS | MF | IEL | LPI |
|--------------|----|----|-----|----|----|----|-----|-----|
| ID(n:27) | 20 | 14 | 12 | 11 | 7 | 16 | 26 | 27 |
| Duodeno (24) | 17 | 12 | 11 | 10 | 6 | 14 | 23 | 24 |
| Yeyuno (2) | 2 | 1 | - | - | - | 1 | 2 | 2 |
| Ileon (1) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| I.G. (n:26) | 17 | 14 | 12 | 12 | 7 | 19 | 26 | 26 |
| Colon (17) | 12 | 12 | 10 | 11 | 6 | 15 | 20 | 20 |
| Recto (7) | 4 | 2 | 2 | 1 | 1 | 3 | 5 | 5 |
| Ciego (2) | 1 | - | - | - | - | 1 | 1 | 1 |

Abreviaturas. LD: Dilatación láctea; CD:Distensión Cripta; VEI: Lesión epitelial de vellosidad; SQ: descamación; VS:Atrofia de vellosidad; MF: Fibrosis Mucosa; IEL: Linfocitos intraepiteliales ; LPI: Infiltrado de lámina propia; ID (Intestino Delgado); IG (Intestino Grueso).

Tabla 2. Relación entre muestras y signos clínicos en el intestino delgado y grueso de perros con EII.

| | Vómito | Diarrea | Anorexia | Pérdida Peso | Hematoquecia | Heces Mucoides |
|--------------|--------|---------|----------|-----------------|--------------|-------------------|
| I.D. (n:27) | 16 | 21 | 7 | 7 | 1 | - |
| Duodeno (24) | 14 | 18 | 7 | 7 | 1 | - |
| Yeyuno (2) | 2 | 2 | - | - | - | - |
| Íleon (1) | - | 1 | - | - | - | - |
| I.G. (n:26) | 7 | 21 | 1 | 2 | 15 | 11 |
| Colon (17) | 5 | 17 | 1 | 1 | 11 | 10 |
| Recto (7) | 1 | 3 | - | 1 | 4 | 1 |
| Ciego (2) | 1 | 1 | - | - | - | - |

Tabla 3. Evaluación histopatológica del intestino delgado y grueso de gatos con EII.

| | LD | CD | VEI | SQ | VS | MF | IEL | LPI |
|--------------|----|----|-----|----|----|----|-----|-----|
| I.D. (n:14) | 9 | 10 | 6 | 6 | 2 | 14 | 14 | 14 |
| Duodeno (14) | 9 | 10 | 6 | 5 | 2 | 14 | 14 | 14 |
| I.G. (n:6) | 3 | 4 | 2 | 4 | 1 | 3 | 6 | 6 |
| Colon (6) | 3 | 4 | 2 | 4 | 1 | 3 | 6 | 6 |

Abreviaturas. LD: Dilatación lacteal; CD: Distensión de Cripta; VEI: Lesión epitelial de la vellosidad; SQ: descamación; VS: Atrofia de la vellosidad; MF: fibrosis mucosa; IEL: Linfocitos intraepiteliales; LPI: Infiltrado de lámina propia.

Tabla 4. Relación entre muestras y signos clínicos en el intestino delgado y grueso de gatos con EII.

| | Vómito | Diarrea | Anorexia | Pérdida Peso | Hematoquecia | Heces Mucoides |
|--------------|--------|---------|----------|-----------------|--------------|-------------------|
| I.D. (n:14) | 5 | 8 | 2 | 1 | - | - |
| Duodeno (14) | 5 | 8 | 2 | 1 | - | - |
| I.G. (n:6) | 3 | 4 | 1 | - | 1 | 1 |
| Colon (6) | 3 | 4 | 1 | - | 1 | 1 |

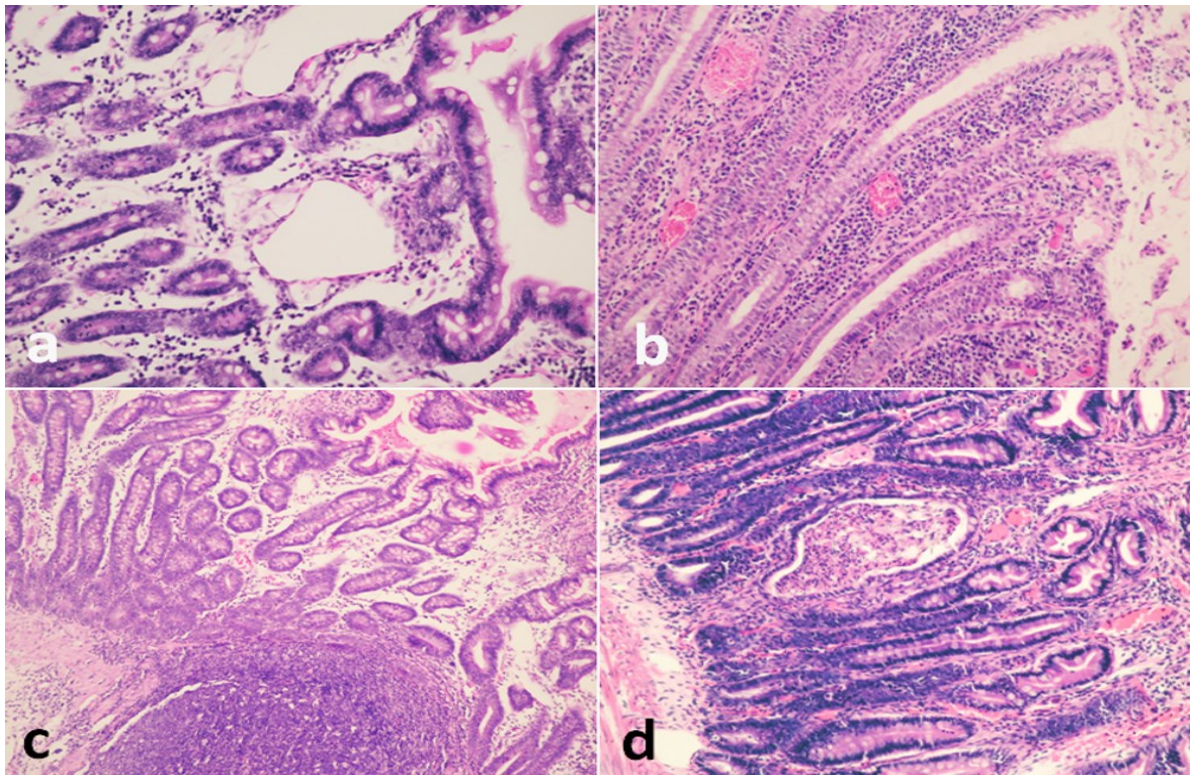


Fig 1. a) La vellosidad aparece marcadamente distendida, con infiltración mononuclear media, edema intersticial de la lámina propia y moderada dilatación del conducto lacteal. Hematoxilina y Eosina, x200, b) Infiltración mononuclear de media a difusa dentro de la lámina propia. Hematoxilina y Eosina, x 100, c) Infiltración mononuclear y edema de la lámina propia, e hiperplasia media de las criptas y agregados linfoides. Hematoxilina y eosina x40, d) Distensión de una cripta, rellena de moco, células inflamatorias y restos celulares, y rodeado con epitelio celular atenuado, tan bien como infiltración celular mononuclear dentro de la lámina propia. Hematoxilina y eosina x 100.

El infiltrado celular en todas las muestras de mucosas estaba compuesto predominantemente por linfocitos y células plasmáticas, a veces acompañado de una mezcla de escasa cantidad de eosinófilos, neutrófilos y macrófagos.

La infiltración de linfocitos en el duodeno de los animales con EII aumentó significativamente en comparación con los controles, y estos se localizaron principalmente en la parte superior de las vellosidades, así como dentro de la capa epitelial. Por el contrario, en la mucosa colónica, hubo una menor variabilidad entre los individuos de control y los animales con EII.

El análisis estadístico reveló una ligera asociación entre la diarrea y la dilatación láctea en el intestino delgado ($P = 0,0098$), y diarrea y descamación en el intestino grueso ($P = 0,0213$) de perros con EII. Los resultados de este análisis se muestran en la Tabla 5 y 6 respectivamente. Con respecto a los gatos, el análisis estadístico mostró una alta asociación entre atrofia de las

vellosidades (P = 0,0066) y la lesión epitelial de las vellosidades (P = 0,0214) con la anorexia. Los resultados de este análisis se muestran en la Tabla 7, donde se presenta la razón de probabilidades con los intervalos de confianza. No se identificaron asociaciones significativas entre el resto de lesiones y signos clínicos de perros y gatos afectados de EII.

Tabla 5. Frecuencias y prueba de Chi-cuadrado para las diferentes variables consideradas en el intestino delgado y obtenidas del examen histopatológico y de signos clínicos en perros con EII.

| | Total N =27 | Dilatación Lacteal | | P-valor | Distensión Criptas | | P-valor | Lesión epitelial vellosidad | | P-valor | descamación | | P-value | Atrofia Vellosidad | | P-valor | Fibrosis Mucosa | | P-valor |
|--------------|-------------------|--------------------|-----------|---------------|--------------------|------------|---------|-----------------------------|------------|---------|-------------|------------|---------|--------------------|------------|---------------|-----------------|------------|--------------|
| | | Si N=20 | No N=7 | | Si N=14 | No N=13 | | Si N=12 | No N=15 | | Si N=11 | No N=16 | | Si N=7 | No N=20 | | Si N=16 | No N=11 | |
| Vómito | 16 | 11 | 5 | 0.4464 | 9 | 7 | 0.5812 | 6 | 10 | 0.3811 | 5 | 11 | 0.2261 | 5 | 11 | 0.4464 | 11 | 5 | 0.2261 |
| Diarrea | 21 | 18 | 3 | 0.0098 | 11 | 10 | 0.9180 | 10 | 11 | 0.5346 | 10 | 11 | 0.1736 | 3 | 18 | 0.0098 | 13 | 8 | 0.6007 |
| Anorexia | 7 | 6 | 1 | 0.4142 | 4 | 3 | 0.7448 | 1 | 6 | 0.0621 | 1 | 6 | 0.0979 | 4 | 3 | 0.0285 | 5 | 2 | 0.4464 |
| Pérdida Peso | 7 | 5 | 2 | 0.8528 | 2 | 5 | 0.1521 | 2 | 5 | 0.3261 | 2 | 5 | 0.4464 | 2 | 5 | 0.8528 | 3 | 4 | 0.3048 |
| Hematoquecia | 1 | 1 | 0 | 0.5466 | 1 | 0 | 0.3261 | 0 | 1 | 0.3621 | 0 | 1 | 0.3981 | 0 | 1 | 0.5466 | 1 | 0 | 0.3981 0. |

Tabla 6. Frecuencias y prueba de Chi-cuadrado para las diferentes variables consideradas en el intestino grueso y obtenidas del examen histopatológico y de signos clínicos en perros con EII.

| | Total N =26 | Dilatación Lacteal | | P-valor* | Distensión Criptas | | P-valor | Lesión epitelio de vellosidad | | P-valor | Descamación | | P-valor | Atrofia de vellosidad | | P-valor | Fibrosis mucosa | | P-valor |
|----------------|-------------------|--------------------|-----------|----------|--------------------|------------|---------|-------------------------------|------------|---------|-------------|------------|---------------|-----------------------|------------|---------|-----------------|-----------|---------|
| | | Si N=17 | No N=9 | | Si N=14 | No N=12 | | Si N=12 | No N=14 | | Si N=12 | No N=14 | | Si N=7 | No N=19 | | Si N=19 | No N=7 | |
| Vomito | 7 | 5 | 2 | 0.6942 | 3 | 4 | 0.4951 | 5 | 2 | 0.1166 | 3 | 4 | 0.8378 | 1 | 6 | 0.3779 | 5 | 2 | 0.9084 |
| Diarrea | 21 | 14 | 7 | 0.7782 | 13 | 8 | 0.0912 | 11 | 10 | 0.1918 | 12 | 9 | 0.0213 | 7 | 14 | 0.1310 | 16 | 5 | 0.4632 |
| Anorexia | 1 | 1 | 0 | 0.4581 | 1 | 0 | 0.3451 | 1 | 0 | 0.2707 | 1 | 0 | 0.2707 | 0 | 1 | 0.5359 | 1 | 0 | 0.5359 |
| Pérdida peso | 2 | 1 | 1 | 0.6341 | 1 | 1 | 0.9096 | 1 | 1 | 0.9096 | 1 | 1 | 0.9096 | 0 | 2 | 0.3716 | 1 | 1 | 0.4438 |
| Hematoquecia | 15 | 10 | 5 | 0.8725 | 9 | 6 | 0.4623 | 9 | 6 | 0.0982 | 8 | 7 | 0.3912 | 4 | 11 | 0.9725 | 11 | 4 | 0.9725 |
| Heces mucoides | 11 | 6 | 5 | 0.3198 | 7 | 4 | 0.3912 | 7 | 4 | 0.1257 | 6 | 5 | 0.4623 | 3 | 8 | 0.9725 | 7 | 4 | 0.3527 |

Tabla 7. Frecuencias y prueba de Chi-cuadrado para las diferentes variables obtenidas del examen histopatológico y signos clínicos en gatos con EII.

| | Total N = 20 | Dilatación lacteal, n | | P | Distensión cripta, n | | P | Lesión vellosidad, n | | p | Descamación, n | | p | Atrofia vellosidad ,n | | p | Fibrosis mucosa | | p |
|----------------------|--------------------|--------------------------|---------------|--------|-------------------------|-----------|------------|----------------------------|----------------|--------------------|-------------------|----------------|----------------|-----------------------------|----------------|--------------------|--------------------|---------------|------------|
| | | Si N=1 2 | No N =8 | | Si N=14 | No N=6 | | Si N =8 | No N =12 | | Si N =10 | No N =10 | | Si N =3 | No N =17 | | Si N =17 | No N =3 | |
| Vómito | 8 | 3 | 5 | 0.0935 | 4 | 4 | 0.11 10 | 3 | 5 | 0.85 22 | 4 | 4 | 1 | 2 | 6 | 0.30 65 | 6 | 2 | 0.30 65 |
| Diarrea (%) | 12 | 6 | 6 | 0.2636 | 8 | 4 | 0.69 03 | 4 | 8 | 0.45 61 | 7 | 5 | 0.3 61 3 | 2 | 10 | 0.79 82 | 9 | 3 | 0.12 50 |
| Anorexia | 3 | 3 | 0 | 0.1250 | 3 | 0 | 0.21 87 | 3 | 0 | 0.02 14 | 3 | 0 | 0.0 60 3 | 2 | 1 | 0.00 66 | 3 | 0 | 0.43 00 |
| Pérdida peso n | 1 | 0 | 1 | 0.2089 | 0 | 1 | 0.50 18 | 0 | 1 | 0.40 22 | 0 | 1 | 0.3 04 9 | 0 | 1 | 0.66 65 | 1 | 0 | 0.66 65 |
| Hematoch ezia | 1 | 1 | 0 | 0.4022 | 1 | 0 | 0.50 18 | 1 | 0 | 0.20 89 | 1 | 0 | 0.3 04 9 | 0 | 1 | 0.66 65 | 1 | 0 | 0.66 65 |
| Mucoid Feces n | 1 | 1 | 0 | 0.4022 | 1 | 0 | 0.50 18 | 1 | 0 | 0.20 89 | 1 | 0 | 0.3 04 9 | 0 | 1 | 0.66 65 | 1 | 0 | 0.66 65 |

Discusión

Es escasa la bibliografía que defina índices clínicos e histopatológicos para valorar la actividad de la enfermedad inflamatoria intestinal crónica. Por tanto, su valoración en perros y gatos es bastante difícil. Esto es particularmente importante en gatos con una enfermedad entérica difusa, que presenta signos intestinales mixtos y requiere una biopsia tanto del intestino delgado como del grueso para el diagnóstico [7]. En nuestro estudio, incluimos registros hospitalarios que incluían biopsias de intestino delgado y grueso. Curiosamente, la mayoría de los signos clínicos observados en estos animales fueron bastante similares a otros estudios realizados sobre la EII que utilizaron el índice de actividad de la enfermedad inflamatoria intestinal canina (CIBDAI) o el índice de actividad de enteropatía crónica felina (FCEAI) [1,7,15,17]. Un estudio anterior basó su análisis en la intensidad de diferentes signos clínicos [1]. Sin embargo, en nuestra investigación, se ignoró parcialmente la intensidad y el grado de la enfermedad y se centró en la presencia o ausencia de lesión, evitando la ambigüedad interpretativa entre patólogos, como han sugerido las nuevas directrices de WSAVA [10]. Estos elementos subjetivos que no siempre representan la carga inflamatoria existente pueden llevar a una discordancia entre los resultados de diferentes encuestas utilizando CIBDAI o FCEAI como se describe en otros informes.

Se asume que la linfangiectasia en animales es una enfermedad adquirida y su etiología es generalmente idiopática [3]. También puede ser el resultado de cualquier tipo de obstrucción del flujo linfático en los ganglios o vasos linfáticos mesentéricos, con mayor frecuencia secundaria a inflamación [8,12]. En nuestra serie, la dilatación láctea se correlacionó con la

diarrea, pero es importante considerar que este signo clínico se ha asociado con la diarrea crónica [15,18]. No obstante, otros parámetros importantes asociados con la dilatación de los lacteos como la hipoalbuminemia no pudieron evaluarse como consecuencia del carácter retrospectivo de nuestro estudio. Otros cambios importantes observados en la arquitectura de la mucosa, como la descamación, se correlacionaron bien con diarrea. Un estudio reciente indicó que los cambios en la arquitectura de la mucosa estaban relacionados con la presencia y la gravedad de la enfermedad GI [13]. No obstante, se necesitan más estudios prospectivos para evaluar adecuadamente el significado de estas correlaciones.

En este estudio, la gravedad de la infiltración linfocítica en la lámina propia no se correlacionó con la intensidad de los signos clínicos. Diferentes estudios han informado de que caracterizar la extensión y gravedad del infiltrado inflamatorio en biopsias intestinales de perros y gatos es una tarea difícil [12-15]. Por tanto, algunos autores sugieren que la presencia de un mayor número de linfocitos depositados en la lámina propia y su contribución al proceso de la EII se explican mejor cuando se examina el intestino como una imagen global [8]. Además, los estudios realizados en perros y gatos con EII mostraron una regulación positiva de citocinas proinflamatorias predominante en la mucosa colónica y duodenal inflamada en animales con colitis linfoplasmocítica o enteritis como ocurre en las personas, aunque no se realizaron correlaciones [13,19]. En el presente estudio, se observaron muchas similitudes entre la respuesta inflamatoria en el intestino delgado y grueso de perros y gatos afectados con EII. Se describieron hallazgos comparables en otros estudios [10,11,14] que mostraron una mejor evaluación clínica sin hacer una distinción entre el intestino superior o el inferior.

Las lesiones histopatológicas identificadas en los animales de este estudio mostraron una fibrosis significativa asociada con un daño importante a la membrana mucosa del intestino delgado y grueso. Se notificaron características similares en un estudio realizado en el intestino delgado de animales con EII grave [6].

Diferentes circunstancias pueden interferir con la interpretación histopatológica de las muestras intestinales, como el área correcta del tracto GI a tomar, la calidad de las muestras de tejido analizadas y la falta de coherencia en la interpretación de los cambios histopatológicos entre los patólogos [13-15]. Estas circunstancias llevaron al Grupo de Estandarización GI de WSAVA a desarrollar una plantilla histopatológica para evitar estas preocupaciones, pero incluso con este sistema de puntuación histopatológica, se han observado variaciones importantes en la interpretación diagnóstica de las muestras intestinales ya que el método mencionado anteriormente no incluía la evaluación de todos los segmentos intestinales. Por tanto, en el presente estudio ampliamos su uso a otras secciones del tracto gastrointestinal y, curiosamente, su uso no mostró diferencias significativas en la evaluación de las muestras intestinales realizada entre patólogos. Se obtuvieron resultados idénticos en un estudio reciente realizado en perros utilizando un sistema de puntuación similar [13].

En conclusión, el sistema de puntuación histopatológico utilizado en este estudio proporcionó información importante sobre el grado de inflamación de la mucosa en el tracto gastrointestinal de perros y gatos con EII. Sin embargo, este trabajo propone que la evaluación de la enfermedad inflamatoria intestinal puede ser complicada, especialmente con el uso de registros retrospectivos de biopsias intestinales archivadas y decisiones clínicas e histopatológicas subjetivas. Para obtener mejores resultados, es importante realizar un seguimiento de los animales afectados y evaluar los factores de resultado como una evaluación precisa del estado de salud de los pacientes, como sugieren los informes sobre enfermedades crónicas humanas [20]. Todas estas premisas serían de gran ayuda en la uniformidad de un estándar para la evaluación y seguimiento de la enfermedad inflamatoria intestinal.

CAPITULO 2

Estudio inmunohistoquímico en animales afectados con IBD

En la Tabla 1 del capítulo anterior se muestra un resumen de las características de los perros diagnosticados con EII. Todos estos animales estudiados tenían evidencia de inflamación dentro de la mucosa intestinal y un diagnóstico histopatológico de enteritis linfocítica-plasmocítica (LPE) o colitis plasmocítica linfocítica (LPC). Los perros con signos clínicos compatibles con enfermedad gastrointestinal crónica mostraron LPE en 30 de 41 muestras intestinales (Tabla 1a). Veintiuna muestras mostraron solo grados variables de lesiones descritas por WSAVA, como atrofia de las vellosidades, distensión metaplásica, lesión epitelial de las vellosidades, como linfangiectasia, dilatación de las criptas y fibrosis de la lámina propia con infiltrados inflamatorios compuestos principalmente por linfocitos y células plasmáticas. Las otras 11 muestras intestinales tenían LPC y solo mostraban grados variables de lesiones arquitectónicas como lesión epitelial, dilatación de las criptas y pérdida de células epiteliales de las criptas.

La segunda parte de este estudio fue la evaluación del fenotipo celular evaluando antígenos específicos para estas células. El patrón de inmunoreactividad y la distribución de las células inmunomarcadas con CD3, CD68, CD45, proteína S-100 bovina y células Foxp3 fueron en general similares en los ganglios linfáticos humanos y de perro de control. Hubo una gran variabilidad entre los perros de control individuales y los perros con EII. Por tanto, el número total de células CD3 + en el duodeno de los perros con EII se incrementó significativamente en comparación con los perros control, reaccionando con un elevado número de linfocitos, localizados principalmente en la parte superior de las vellosidades, así como con número variable de linfocitos dentro de la capa epitelial (linfocitos intraepiteliales, IEL). Por el contrario, en la mucosa colónica hubo una menor variabilidad entre perros de control individuales y perros con EII.

En relación a los linfocitos B CD45 +, no se observaron diferencias significativas en el número y distribución de las células plasmáticas en las diferentes zonas de la mucosa del intestino delgado de perros con EII y perros control, mostrándose numerosos linfocitos B CD45 + que aumentaron de la vellosidad a las zonas de la cripta inferior. Sin embargo, al comparar la mucosa colónica de los perros con la EII y los perros de control, hubo un número elevado de células B CD45 + en comparación con las áreas equivalentes en los perros de control. A excepción de las vellosidades y el área de la cripta superior de la mucosa colónica de los perros sanos, todas las áreas intestinales de los perros con EII tenían un número reducido de macrófagos CD68 +. El anticuerpo anti-CD68 reaccionó con pocos macrófagos de la lámina propia de perros con EII. El número de estas células también disminuyó en las áreas de las criptas del intestino delgado y grueso, así como su número total en todo el intestino de los perros con EII (Tabla 2).

Se detectaron células positivas para la proteína S-100 en cualquiera de las secciones de duodeno, íleon o colon de perros sanos y aquellos con EII. En perros sanos, se observó un ligero aumento del número de células positivas en la lámina propia de la mucosa del intestino delgado en comparación con la lámina propia de la mucosa colónica. Los perros con EII tenían un número variable de células positivas en las áreas del intestino delgado en comparación con las áreas equivalentes en los perros de control. Sin embargo, la lámina propia de la mucosa colónica de los perros con EII mostró un mayor número de células proteicas S-100. Este pAb reaccionó con el núcleo y el citoplasma de numerosos linfocitos de la parte inferior de la cripta, así como con un número moderado de neutrófilos (Figura 1). Además, este anticuerpo marcó células epiteliales de las criptas y aisló células más grandes que mostraban proyecciones citoplásmicas.

Estas células similares a las dendríticas también se observaron en abundancia en el tejido GALT (Tejido linfoide asociado a intestino).

En perros sanos, IHC mostró expresión nuclear de Foxp3 en linfocitos dispersos en la lámina propia de la vellosidad, así como en algunos linfocitos intraepiteliales (IEL). Sin embargo, en perros con EII, se redujo el número total de células positivas a Foxp3.

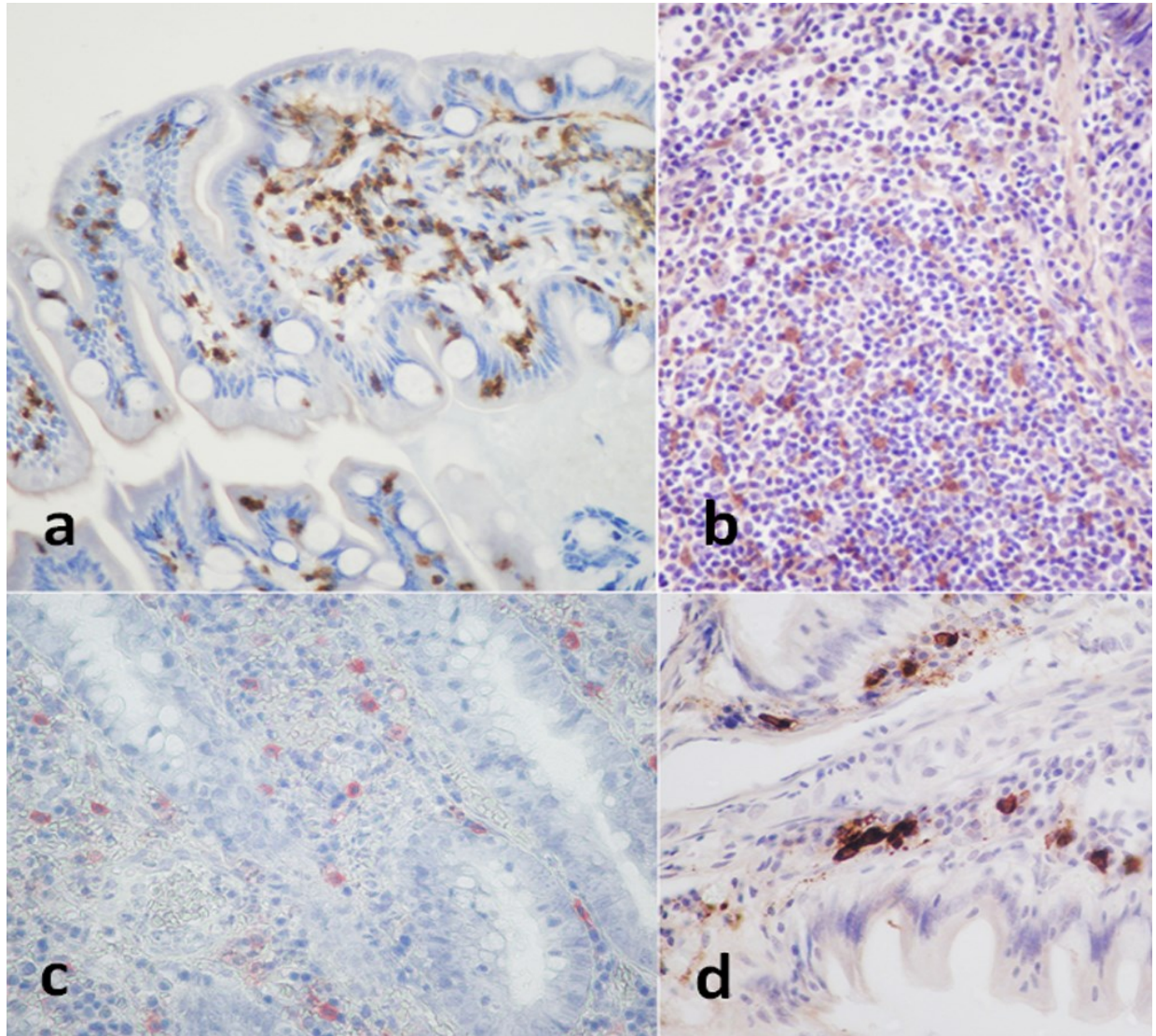


Figura 1. a) Linfocitos CD3 + principalmente localizados en la parte superior de las vellosidades, así como con un número variable de linfocitos dentro de la capa epitelial. (linfocitos intraepiteliales, IEL). **b)** Células S-100+ en numerosos linfocitos de la parte inferior de la cripta, así como con un número moderado de neutrófilos. Además, este anticuerpo marca abundantes células similares a las dendríticas en el tejido GALT. **c)** Numerosas células plasmáticas CD45 + en la lamina propia y que aumentaron desde las vellosidades hasta la parte inferior de la cripta. **d)** Presencia de Macrófagos CD68+ en lámina propia asociado a intenso infiltrado linfoplasmocitario y linfangiectasia.

Tabla 1a. Cuadro que representa las características de los perros diagnosticados con EII

| MUESTRA | LOCALIZACIÓN | RAZA | GÉNERO | PATOLOGIA |
|---------|-----------------------|--------------------|--------|-----------|
| 1 | I.D. | PODENCO CANARIO | HEMBRA | LPE |
| 2 | DUODENUM (CONTROL) | PODENCO CANARIO | HEMBRA | LPE |
| 3 | I.D. | PODENCO CANARIO | HEMBRA | LPE |
| 4 | I.D. | GOLDEN R. | MACHO | LPE |
| 5 | I.D. | YORKSHIRE T. | MACHO | LPE |
| 6 | I.D. | ROTTWEILER | MACHO | LPE |
| 7 | DUODEN | YORKSHIRE T. | HEMBRA | LPE |
| 8 | COLON | ROTTWEILER | MACHO | LPC |
| 9 | I.D. | SCHNAUZER MINI | MACHO | LPE |
| 10 | I.D. | PASTOR ALEMÁN | MACHO | LPE |
| 11 | I.D. | BULLDOG INGLÉS | MACHO | LPE |
| 12 | I.D. X | PASTOR ALEMÁN | HEMBRA | LPE |
| 13 | I.G. | MESTIZO | MACHO | LPE |
| 14 | COLON | YORKSHIRE TERRIER | MACHO | LPE |
| 15 | I.D. | MESTIZO | HEMBRA | LPE |
| 16 | COLON | BULLDOG FRANCÉS | HEMBRA | LPC |
| 17 | DUODEN | PASTOR ALEMÁN | MACHO | LPE |
| 18 | I.D./COLON X | BOXER | HEMBRA | LPE |
| 19 | I.D. | MESTIZO | MACHO | LPE |
| 20 | I.G. | LABRADOR RETRIEVER | HEMBRA | LPE |
| 21 | I.D. | CHIHUAHUA | HEMBRA | LPE |
| 22 | DUODENO | PASTOR ALEMÁN | MACHO | LPE |
| 23 | COLON X | LABRADOR | MACHO | LPC |
| 24 | COLON | MESTIZO | HEMBRA | LPC |
| 25 | COLON | MINI SHNAUZER | HEMBRA | LPE |
| 26 | COLON | BOXER | MACHO | LPC |
| 27 | I.G. | MESTIZO | MACHO | LPE |
| 28 | DUODENUM | BULDOG INGLÉS | MACHO | LPE |
| 29 | COLON | MESTIZO | MACHO | LPE |
| 30 | I.D. | LABRADOR | MACHO | LPE |
| 31 | I.G. | YORKSHIRE TERRIER | MACHO | LPE |

| | | | | |
|----|--------------|-----------------------|--------|-----|
| 32 | COLON | LABRADOR | HEMBRA | LPE |
| 33 | COLON S.I. X | BOSTON TERRIER | MACHO | LPC |
| 34 | COLON | PODENCO CANARIO | MACHO | LPE |
| 35 | COLON X | MESTIZO | MACHO | LPC |
| 36 | I.D. | BULLDOG FRANCÉS | MACHO | LPE |
| 37 | COLON | MESTIZO | MACHO | LPC |
| 38 | COLON | STAFFORDSHIRE TERRIER | HEMBRA | LPE |
| 39 | COLON | MESTIZO | HEMBRA | LPC |
| 40 | COLON X | YORKSHIRE TERRIER | MACHO | LPC |
| 41 | COLON | BORDER COLLIE | HEMBRA | LPC |
| 1 | CONTROL | YORKSHIRE TERRIER | MACHO | - |
| 2 | CONTROL col. | BOXER | HEMBRA | - |
| 3 | I.D. CONTROL | SCHNAUZER MINI | MACHO | - |
| 4 | CONTROL | MESTIZO | HEMBRA | - |

Abreviaturas: Enteritis Linfocítica-Plasmocítica (LPE) o Colitis Plasmocítica Linfocítica (LPC).

Tabla 2: Evaluación del fenotipo celular evaluando antígenos específicos para estas células

| Muestra | Localización | CD3 | Intraep. CD3 | S100 Lámina propia | S100 Tejido Linfoide | CD45 | CD68 |
|---------|--------------|-------|--------------|--------------------|----------------------|------|------|
| 1 | I.D. | 1,1 | | | | | |
| 2 | I.D.CONTROL | 2,31 | 0 | 2,33 | 1,66 | 5 | 0 |
| 3 | I.G. | 4,6 | 0 | 2 | 1,6 | 4,6 | 0 |
| 4 | I.D. DUODEN | | | | | | |
| 5 | I.D. | | | | | | |
| 6 | I.D. | | | | | | |
| 7 | I.D. | | | | | | |
| 8 | I.D. | | | | | | |
| 9 | I.D. | | | | | | |
| 10 | I.D. | | | | | | |
| 11 | I.D. | | | | | | |
| 12 | I.D. | | | | | | |
| 13 | I.D. | | | | | | |
| 14 | I.D. | 8 | 3,3 | 2,6 | 0 | 2,33 | 0 |
| 15 | I.D. | | | | | | |
| 16 | I.D. | 34,66 | 3,33 | 1 | 0 | 5,3 | 0 |
| 17 | I.D. | 2,3 | 0 | 6 | 1,33 | 4,3 | 0 |
| 18 | I.D. | | | | | | |
| 19 | I.G. | 4,6 | 1,33 | 5 | 6,33 | 4,33 | 0 |
| 20 | I.D. | | | | | | |
| 21 | I.D. | | | | | | |
| 22 | I.D. | | | | | | |
| 23 | I.G. | | | | | | |
| 24 | I.G. | | | | | | |
| 25 | I.D. | | | | | | |
| 26 | I.G. | 5,3 | 1,6 | 2,3 | 9,6 | 2 | 0 |
| 27 | I.D. | | | | | | |
| 28 | I.D. | | | | | | |
| 29 | I.D. | | | | | | |
| 30 | I.D.DUODE | | | | | | |
| 31 | I.D. | | | | | | |
| 32 | I.D. | 44,66 | 3,3 | 2,33 | 1 | 4,3 | 3 |
| 33 | Colón | | | | | | |
| 34 | I.D. | | | | | | |
| 35 | Colón | | | | | | |
| 36 | I.D. | | | | | | |
| 37 | Colón | | | 2,33 | 0 | 4,33 | 7 |
| 38 | I.D. | | | | | | |
| 39 | COLON | | | | | | |
| 40 | Colón | | | | | | |
| 41 | COLON | | | | | | |
| 1 | Colon | | | | | | |
| 2 | Ctrl. Colón | 3 | 1 | 2 | 5,3 | 1 | 2 |

Abreviaturas: I.D.: Intestino Delgado; IG: Intestino Grueso.

DISCUSIÓN

La lesión intestinal más común observada en el presente estudio se caracterizó por una enteritis linfoplasmocítica, con características histopatológicas similares a las descritas en estudios previos en seres humanos (Jergens y Simpson, 2012) perros (Waly et al., 2004, Day et al., 2008;) y gatos (Marsilio et al., 2014). Las etiologías exactas de este grupo heterogéneo de trastornos aún no se han determinado, aunque los informes de la ciencia básica y los estudios clínicos sugieren una variedad de causas, como bacterias entéricas, factores genéticos o mecanismos mediados inmunológicamente (Brandtzaeg, 2001, Jergens y Simpson, 2012).

El presente estudio ha caracterizado el número y distribución de diferentes tipos de células inflamatorias en muestras de biopsia de intestino delgado y grueso de perros con EII clínica y enteritis linfoplasmocítica mediante un panel que contenía anticuerpos no utilizados hasta la fecha. Waly et al. Han realizado estudios similares en gatos. (2004) en muestras de biopsia endoscópica o más recientemente en muestras de biopsia de espesor total del intestino delgado y grueso de gatos con EII sanos y linfoplasmocíticos (Marsilio et al., 2014) y perros (Maeda et al., 2016). En nuestro estudio, los infiltrados linfocíticos o plasmocíticos se limitaron principalmente a la lámina propia de diversas regiones del tracto intestinal. Ya se ha informado de una distribución celular similar en perros (Jergens 1992, Stonehewer et al., 1998, Maeda et al., 2016) y gatos con esta enfermedad intestinal (Waly et al., 2004, Marsilio et al., 2014).

La mayoría de los perros afectados con EII tenían más células T CD3 + en comparación con los controles, pero solo se observaron diferencias significativas en el duodeno. Sin embargo, en la mucosa colónica hubo menor variabilidad. Algunos estudios sugieren que podría deberse a una alta variabilidad entre animales individuales, cría o diferencias en la flora intestinal o ambiental (Van Nguyen et al., 2006). Por otro lado, las investigaciones realizadas en gatos no mostraron una diferencia en el número de células T CD3 + en muestras duodenales de gatos con EII y gatos de control (Waly et al., 2004). El motivo de esta discrepancia no está claro y se podrían considerar diferentes factores como el estado de actividad de la enfermedad en el momento del muestreo (Marsilio et al., 2014). En nuestro estudio, las células T CD3 + se distribuyeron de manera similar en la lámina propia de la región de las vellosidades del intestino delgado y las áreas del colon superior. Estos resultados están de acuerdo con los hallazgos de Waly et al. (2004) y los descritos por Marsilio et al. (2014) realizado en muestras de biopsia endoscópica. Sin embargo, en estos informes no se mencionó a los linfocitos intraepiteliales. El elevado número de IEL que expresan CD3 en nuestros animales también se ha observado en otros informes en perros (German et al., 2001) y se correlacionó con la gravedad histopatológica y la patogenia de la EII (Maeda et al., 2012). La acumulación de células T en este nivel puede reflejar la compartimentación de las células inmunes en el intestino y puede deberse a los efectos de las células presentadoras de antígenos, que se sabe que son más prominentes en la región de las vellosidades superiores que en las regiones de las criptas en gatos sanos. y en gatos con EII (Waly et al., 2004).

En este estudio observamos un aumento generalizado de linfocitos B CD45 + en las diferentes zonas de la mucosa del intestino delgado de perros con EII y perros control, mostrando numerosos linfocitos B CD45 + que aumentaron desde las vellosidades hasta las zonas de la cripta inferior. Sin embargo, hubo un número elevado de células B CD45 + en la mucosa colónica de perros con EII en comparación con las áreas equivalentes en perros de control. El hallazgo de un aumento de células B CD45 + en perros con EII se asemeja a otros estudios realizados en humanos (Baklien et al., 1975, Rosenkrans et al., 1980), perro (Vibe-Petersen 1991, Mayoral et al., 1996, Jergens et al., 1999) y gato (Marsilio et al., 2014) donde se documentaron altos

números de IgG +, lo que sugiere que estas células inmunológicamente competentes juegan un papel importante en los animales con EII.

Los estudios realizados en perros (German et al., 2001) y gatos (Waly et al., 2004, Marsilio et al., 2014) con EII utilizando anticuerpos específicos para macrófagos mostraron resultados diferentes con menor número de estas células en la lámina propia en gatos que en perros. En nuestro estudio, se observó un número moderado de macrófagos CD68 + en las vellosidades y el área de la cripta superior de la mucosa colónica de perros sanos. Sin embargo, todas las áreas intestinales en perros con EII tenían un número reducido de macrófagos CD68 +. Este hallazgo se asemeja a los resultados descritos para perros (German et al., 2001) y gatos (Marsilio et al., 2014) con EII, donde el número reducido de estas células se asoció con una posible emigración de macrófagos del torrente sanguíneo a la lámina propia de el intestino, con pérdida de su expresión debido a la maduración (Marsilio et al., 2014).

Se observó pAb S-100 en un gran número de linfocitos tanto en la parte inferior de la cripta como en los ganglios linfáticos de control. Este anticuerpo también fue expresado por un número abundante de células grandes y estrelladas ubicadas en las criptas de perros con EII. Los estudios reportados en la mucosa inflamada de pacientes con EII mostraron resultados similares (Krajina et al., 2003, Baumgart et al., 2009). La presencia de células estrelladas similares a las dendríticas foliculares y las células interdigitantes en la inflamación crónica que caracteriza a la EII canina sugirió que estas células mejoraron la presentación de antígenos a las células B y T y podrían ser útiles para clasificar la gravedad de la enfermedad. Por el contrario, algunos estudios han mostrado una reducción significativa de estas células (Kathrani et al., 2011), mientras que otros no han mostrado diferencias significativas (Malizia et al., 1991). Estas discrepancias podrían deberse a diferencias en la selección de pacientes, a la variación de las técnicas de cuantificación y selección de marcadores utilizados para caracterizar este tipo de células (Kathrani et al., 2011).

En conclusión, la lesión intestinal más común observada en el presente estudio fue la enteritis linfoplasmocítica, con un infiltrado celular similar al reportado en otros estudios de EII. El infiltrado inflamatorio compuesto principalmente por linfocitos B CD45 + podría sugerir una respuesta humoral local en esta condición, mientras que el número variable de linfocitos CD3 + indica una respuesta celular local variable. Esta condición puede haber sido inducida por estimulación antigénica crónica de origen indeterminado, lo que indica un mecanismo subyacente asociado con la patogénesis inmunomediada de la EII en el perro.

CONCLUSIONES

1. El sistema de evaluación histológica utilizado en este estudio demostró ligera asociación entre la diarrea y la dilatación del conducto lácteo en el intestino delgado y la diarrea y la descamación en el intestino grueso de los perros con EII.
2. En el caso de los gatos, estos solo mostraron una correlación entre la anorexia con atrofia de las vellosidades y la lesión epitelial de las vellosidades, sin correspondencia entre otros signos clínicos y lesiones.
3. El infiltrado inflamatorio presente en la EII está compuesto principalmente por linfocitos B CD45 +, lo que indicaría una respuesta humoral local, mientras que el número variable de linfocitos CD3 + indica una respuesta celular local variable. Estos dos mecanismos podrían ser inducidos por la estimulación antigénica crónica de origen indeterminado, lo que indica un mecanismo subyacente asociado con la patogénesis inmune mediada de la EII.
4. La evaluación de la enfermedad inflamatoria intestinal puede ser complicada, especialmente con el uso de registros retrospectivos de biopsias intestinales archivadas y decisiones clínicas e histopatológicas subjetivas.

RESUMEN

Las enfermedades digestivas conforman una de las casuísticas que con más frecuencia se presentan en perros y gatos. De esta manera, casi el 20% de los pacientes que llegan a nuestras consultas muestran algún proceso gastrointestinal. Dentro de estos procesos se incluye la enfermedad inflamatoria intestinal, y que se describe como la presencia de signos gastrointestinales de más de tres semanas de duración, acompañados de evidencias de inflamación de la mucosa. Este trabajo compara la correlación entre los signos clínicos y las observaciones histopatológicas de todo el intestino en perros y gatos con enfermedad inflamatoria intestinal (EII), así como la distribución de linfocitos T CD3 +, linfocitos B CD45 +, macrófagos, proteína S-100 y células positivas para Foxp3 en el intestino delgado y colon de animales con signos clínicos y un diagnóstico histopatológico confirmado de EII.

Para realizar este estudio, se evaluaron los registros hospitalarios de 53 perros y 20 gatos de diferente sexo, edad y raza diagnosticados con EII siguiendo los criterios histopatológicos de la Asociación Mundial de Veterinarios de Pequeños Animales. Los resultados obtenidos en este estudio mostraron correlaciones entre algunos signos clínicos y la evaluación histopatológica. De esta manera, se observó una ligera asociación entre la diarrea y la dilatación láctea en el intestino delgado, y la diarrea y la descamación en el intestino grueso de los perros con EII, aunque no se encontraron otras asociaciones entre el resto de las lesiones y los síntomas. Por el contrario, los gatos solo mostraron una correlación entre la anorexia con atrofia de las vellosidades y la lesión epitelial de las vellosidades, sin correspondencia entre otros signos clínicos y lesiones. El análisis inmunohistoquímico demostró que la enfermedad se asociaba con un número abundante de células T CD3 + y células B CD45 + en la lámina propia, pero había un número significativamente menor de macrófagos CD68 +. El anticuerpo policlonal contra la proteína S100 reaccionó con un número variable de células polimorfonucleares de la lámina propia, así como con células epiteliales de las criptas. La presencia de numerosas células estrelladas similares a las células dendríticas foliculares que expresan la proteína S-100 en GALT sugirió que estas células mejoraban la presentación de antígenos a las células B y T. Los resultados de este estudio proponen que la evaluación de la EII puede ser complicada, especialmente con el uso de registros retrospectivos de biopsias intestinales archivadas y decisiones clínicas e histopatológicas subjetivas

SUMMARY

Digestive diseases are one of the most common cases in dogs and cats. In this way, almost 20% of the patients who come to our consultations show some gastrointestinal process. These processes include inflammatory bowel disease, which is described as the presence of gastrointestinal signs lasting more than three weeks, accompanied by evidence of inflammation of the mucosa. This work compares the correlation between clinical signs and histopathological observations of the whole intestine in dogs and cats with inflammatory bowel disease (IBD), as well as the distribution of CD3 + T lymphocytes, CD45 + B lymphocytes, macrophages, S-100 protein, and Foxp3-positive cells in the small intestine and colon of animals with clinical signs and a confirmed histopathological diagnosis of IBD.

To carry out this study, the hospital records of 53 dogs and 20 cats of different sex, age and breed diagnosed with IBD were evaluated following the histopathological criteria of the World Association of Small Animal Veterinarians. The results obtained in this study showed correlations between some clinical signs and the histopathological evaluation. Thus, a slight association was observed between diarrhea and milk dilation in the small intestine, and diarrhea and desquamation in the large intestine of dogs with IBD, although no other associations were found between the rest of the lesions and the symptoms. In contrast, cats only showed a correlation between anorexia with villus atrophy and epithelial villus injury, with no correspondence between other clinical signs and lesions. Immuno-histochemical analysis showed that the disease was associated with abundant numbers of CD3 + T cells and CD45 + B cells in the lamina propria, but there were significantly fewer CD68+ macrophages. The polyclonal antibody against the S100 protein reacted with a variable number of polymorphonuclear cells of the lamina propria, as well as with epithelial cells of the crypts. The presence of numerous stellate cells similar to follicular dendritic cells that express the S-100 protein in GALT suggested that these cells enhanced antigen presentation to B and T cells. The results of this study propose that the evaluation of IBD can be complicated, especially with the use of retrospective records of archived intestinal biopsies and subjective clinical and histopathological decisions

BIBLIOGRAFIA

Al Ghazlat S, Rezende CE, Ferreri J, 2013. Feline small cell lymphosarcoma versus inflammatory bowel disease: Diagnostic challenges. *Compend Contin Educ Vet*, E1-E6

Allenspach K, 2011. Clinical Immunology and Immunopathology of the Canine and Feline Intestine. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 41: 345-360.

Allenspach K., Steiner J.M., Shah B.N., Berghoff N., Ruaux C., Williams D.A., Blum J.W., Gaschen F. 2006. Evaluation of gastrointestinal permeability and mucosal absorptive capacity in dogs with chronic enteropathy. *Am. J. Vet. Res.*, 67: 479-483.

Allenspach K., Wieland B., Gröne A., Gaschen F. 2007. Chronic enteropathies in dogs: evaluation of risk factors for negative outcome. *J. Vet. Intern. Med.*, 21: 700-708.

Allenspach K.A., Mochel J.P., Du Y., Priestnall S.L., Moore F., Slayter M., Rodrigues A., Ackermann M., Krockenberger M., Mansell J. 2019. Correlating gastrointestinal histopathologic changes to clinical disease activity in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Vet Pathol*, 56, 435-443. DOI: 10.1177/0300985818813090

Amorin I., Taulescu M.A., Day M.J., Catoi C., Reis C.A., Carneiro, Gärtner F. 2016. Canine gastric pathology: a review. *Neoplastic disease: review article. J. Comp. Path.* 2016, Vol. 154, 9 - 37.

Artis, D. 2008. Epithelial-cell recognition of commensal bacteria and maintenance of immune homeostasis in the gut. *Nat. Rev Immunol.* 8: 411-420.

Baklien K, Brandtzaeg P. 1975. Comparative mapping of the local distribution of immunoglobulin-containing cells in ulcerative colitis and Crohn's disease of the colon. *Clin Exp Immunol* 22:197– 209.

Barker IK, Van Dreumel A.A., Palmer N. 1993. The alimentary system. In *pathology of domestic animals*, 4th Ed., Vol. 2, Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N., Academic Press, San Diego, California, pp.1–317.

Barker I.K., Van Dreumel A.A. 1985. The alimentary system. In *pathology of domestic animals*. 1-237., 3th Ed., Published online 2012 Dec 2. Doi: 10.1016/B978-012-391602-0,50007-4.

Batt R., Hall E.J. 1989. Chronic enteropathies in dogs. *JSAP.* 30:3-12

Baumgart D.C., Thomas S., Przesdzing I., Metzke D., Bielecki C., Lehmann S.M., Lehnardt S., Dörffel Y., Sturm A., Scheffold A., Schmitz J., Radbruch A. 2009. Exaggerated inflammatory response of primary human myeloid dendritic cells to lipopolysaccharide in patients with inflammatory bowel disease. *Clin Exp Immunol.* 157: 423-436.

Bischoff S.C., Barbara G., Buurman W., Ockhuizen T., Schulzke J.D., Serino M., Tilg H., Watson A., Wells J.M. 2014. Intestinal permeability a new target for disease prevention and therapy. *Gastroenterology*, 14:189

Bochner B.S. y Schleimer R.P. 2001. Mast cells, basophils, and eosinophils: distinct but overlapping pathways for recruitment. *Immunological Reviews.* 179:5-15.

Brayden D.J., Jepson M.A., Baird A.W. 2005. Intestinal peyer's patch M cells and oral vaccine targeting. 10:17

- Breitschwerdt E.B., Halliwell W.H., Foley C.W., Stark D.R., Corwin L.A. 1980. A hereditary diarrhetic syndrome in the basenji characterized by malabsorption, protein losing enteropathy and hypergammaglobulinemia. *J Am Anim Hosp Assoc.* 16: 551-560.
- Briscoe K.A., Krockenberger M., Beatty J.A., Crowley A., Dennis M.M., Canfield P.J. Dhand N., Lingard A.E., Barrs V.R. 2011. Lymphoplasmacytic enteritis and low-grade alimentary lymphoma. *J. Comp. Path.* 145: 187-198.
- Brandtzaeg P, 2001. Inflammatory bowel disease: clinics, and pathology. Do inflammatory bowel disease and periodontal disease have similar immunopathogenesis? *Acta Odontol Scand*, 59: 235-243.
- Bright R.M., Jenkins C., DeNovo R., McCrackin M.A., Toal R. 1994. Chronic diarrhoea in a dog with regional granulomatous enteritis. 35: 423-426.
- Burke K.F., Broussard J.D. Ruaux C.G. Suchodolski J.S. Williams D.A., Steiner J.M. 2013. Evaluation of fecal alfa1- proteinase inhibitor concentrations in cats with idiopathic inflammatory bowel disease and cats with gastrointestinal neoplasia. *Vet J.* 196: 189-196.
- Casamian-Sorrosal D., Willard M.D., Murray J.K., Hall E.J., Taylor S.S., Day M.J. 2010. Comparison of Histopathologic Findings in Biopsies from the Duodenum and Ileum of Dogs with Enteropathy *J. Vet. Intern. Med.* 24:80–83
- Cheville N.F. 1979. Uremic Gastropathy in the dog. *Vet. Pathol.* 16: 292-309.
- Coombes J. L., Powrie F. 2008. Dendritic cells in intestinal immune regulation. *Nat Rev Immunol*; 8:435-446
- Cummings J.H., Antoine J.M., Azpiroz F., Bourdet-Sicard R., Brandtzaeg P., Calder P.C., Gibson G.R., Guarner F., Isolauri E., Pannemans D., Shortt C., Tuijtelars S., Watzl B. 2004. PASSCLAIM- Gut health and immunity. *Eur J Nutr.*43: 118-173
- Baez, J.L., Hendrick, M.J., Walker, L.M., Washabau, R.J.1999. Radiographic, ultrasonographic, and endoscopic findings in cats with inflammatory bowel disease of the stomach and small intestine: 33 cases (1990–1997). *J Am Vet Med Assoc.* 215:349–354.
- Breitschwerdt EB, Waltman C, Hagstad H.V., Ochoa R, McClure J, Barta O. 1982. Clinical and epidemiologic characterization of a diarrhetic syndrome in Basenjidogs. *J Am Vet Med Assoc.* 180:914–920.
- Caruso M.L., Di Pinto F., Ignazzi A., Coletta S., Valentini A.M., Cavalcanti E., De Michele F. 2018. Increased nerve twigs in small intestinal mucosa with programmed cell death-ligand 1 and somatostatin receptor type 2A expression in recurrent Crohn disease. *Medicine.* 97:49
- Ceranowicz P., Warzecha Z., Dembinski A. 2015. Peptidyl hormones of endocrine cells origin in the gut – Their discovery and physiological relevance. *J Physiol Pharmacol.* http://www.jpp.krakow.pl/journal/archive/02_15/articles/02_article.html
- Cermakian N., Lange T., Golombek D., Sarkar D., Nakao A., Shibata S., Mazzocchi G. 2013. Crosstalk between the circadian clock circuitry and the immune system. *CHRONOBIOL INT.* 30: 870-888.
- Chen C.S., Mrksich M., Huang S., Whitesides G.M., Ingber D.E. 1997. Geometric control of cell life and death. *Science.* 276: 1425-1428.

- Chichlowski M., Hale P.L. 2008. Bacterial-mucosal interactions in inflammatory bowel disease-an alliance gone bad. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 295: 1139-1149
- Costenbader K.H., Gay, S., Alarcón-Riquelme, M., Iaccarino L., Doria A. 2012. Genes epigenetic regulation and environmental factors: Which is the most relevant in developing autoimmune diseases? *Autoimmun Rev.* 11: 604-609.
- Craven M., Simpson J.W., Ridyard A.E., Chandler M.L. 2004. Canine inflammatory bowel disease: retrospective analysis of diagnosis and outcome in 80 cases (1995-2002). *J Small Anim Pract.* 45: 336-342.
- Craven D.M., Washabau R.J. 2019. Comparative pathophysiology and management of protein-losing enteropathy. *J Vet Intern Med.* 33:383-402.
- Dandrieux J.R.S. 2016. Inflammatory bowel disease versus chronic enteropathy in dogs: are they one and the same? *J Small Anim Pract.* 57: 589-599.
- Day M.J., Bilzer T., Mansell J., Wilcock B., Hall E.J., Jergens A. Minami T., Willard M., Washabau R. 2008. Histopathological standards for the diagnosis of gastrointestinal inflammation in endoscopic biopsy samples from the dog and cat: a report from the world small animal veterinary association gastrointestinal standardization group. *J. Comp. Path.,* 138, Suppl.1: 1-43.
- DeBiasio J. 2008. Clinical Evaluation of Patients with Chronic Vomiting. In: Steiner J. ed. *Small Animal Gastroenterology.* Wiley, John & Sons.
- Devi P Sanjana K, Anandasabapathy. 2017 The origin of DCs and capacity for immunologic tolerance in central and peripheral tissues. *Semin Immunopathol.* 39: 137-152
- Dockray G.J. 1999. Gastrin and gastric epithelial physiology. *J. Physiol.* 518:315 – 324.
- Ettinger S.J., Feldman E.C. *Textbook of Veterinary Internal Medicine.* Tomo II. Quinta edición. W.B. Saunders Company, Philadelphia. Hall E.J., Simpson K.W. *Diseases of the small intestine*
- Ettinger S.J., Feldman E.C. *Textbook of Veterinary Internal Medicine.* Tomo II. Sexta edición. W.B. Saunders Company, Philadelphia. Simpson K.W. 2007. *Enfermedades del Estómago*
- Eurell J.A., Frappier B.L. 2006. *Dellmann's Textbook of Veterinary Histology.* 6th edition. Blackwell Publishing. Ames, Iowa. USA.
- Farquhar M.G., Palade G.E. 1963. Junctional complexes in various epithelia. *J Cell Biol.* 17: 375-412.
- Farray D., Rodríguez F., Muñoz-Aznar Y., Ravelo-García A.G., Jaber J.R. 2020. Study of correlations between clinical signs and morphological features identified in dogs affected with inflammatory bowel disease. *Maced Vet Rev.* 43: 13-22. DOI: 10.2478/macvetrev-2019-0027
- Feinstein R.E, Olsson E. 1992. Chronic gastroenterocolitis in nine cats. *J Vet Diagn Invest.* 4:293-298.
- Fernández Y., Seth M., Murgia D., Puig J. 2017. Ileocolic junction resection in dogs and cats: 18 cases. *Vet Q* 37: 175-181.
- Folaranmi S., Rakoczy G., Bruce J., Humphrey G., Bowen J., Morabito A., Kapur P., Morecroft J., Craigie R., Cserni T. 2011. Ileocaecal valve: how important is it? *Pediatr Surg Int.* 27: 613-615

Fournel-Fleury C., Ponce F., Felman P., Blavier A., Bonnefont C., Chabanne L., Marchal T., Cadore J.L., Goy-Thollot I., Ledieu D., Ghernati I., Magnol J.P. 2002. Canine T-cell Lymphomas: A morphological, immunological and clinical study of 46 new cases. *Vet Pathol* 109:39-92.

Frost D., Lasota J., Miettinen M. 2003. Gastrointestinal stromal tumors and leiomyomas in the dog: a histopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 50 cases. *Vet Pathol.* 40: 42-54.

García-Sancho M., Rodríguez-Franco F., Sainz A., Mancho C., Rodríguez A. 2007. Evaluation of clinical, macroscopic and histopathologic response to treatment in non hypoproteinemic dogs with lymphocytic-plasmacytic enteritis. *J. Vet. Intern. Med.* 21: 11-17.

Garden O.A. 2013. Gastrointestinal immunology. En: Washabau R.J., Day M.J., *Canine and feline gastroenterology.* 3: 42-53. Primera edición. Elsevier Saunders, St. Louis.

German A.J., Hall E.J., Day M.J. 2001. Immune cell populations within the duodenal mucosa of dogs with enteropathies. *J Vet Intern Med*, 15: 14-25.

Gorman S.C., Freeman L.M., Mitchell S.L., Chan D.L. 2006. Extensive small bowel resection in dogs and cats: 20 cases (1998-2004) *J Am Vet Med Assoc.* 228: 403-407.

Grüntzig K., Graf R., Hässig M., Welle M., Meier D., Lott G., Erni D., Schenker N.S., Guscetti F., Boo G., Axhausen K., Fabrikant S., Folkers G., Pospischil A. 2015. The swiss canine cancer registry: a retrospective study on the occurrence of tumours in dogs in Switzerland from 1955 to 2008. *J. Comp. Path., Vol.* 152: 161-171.

Hall E.J., German A.J. Enfermedades del intestino delgado. In: Ettinger SJ, Feldman EC, eds. *Tratado de Medicina interna veterinaria.* 6th ed. Madrid, Spain: Elsevier Saunders; 2007: 1332–1378

Hall E.J., Simpson K.W. Diseases of the small intestine. En: Ettinger S.J., Feldman E.C. *Textbook of Veterinary Internal Medicine.* Tomo II. Quinta edición. W.B. Saunders Company, Philadelphia.

Heasman L, Williams J, Priesnal S, Allenspach K: No linear correlation between histopathologic and clinical severity grading in canine inflammatory bowel disease (IBD): 102 cases. *Proceedings of the 26th ECVIM Congress, 08-10 September, Goteborg, Sweden, 2018.*

Gaastra W., Lipman J.A.L., De Cock A.W.A.M., Exel T.K., Pegge R.B.G., Scheurwater J., Vilela R., Mendoza L. 2010. *Pythium insidiosum*: an overview. *Vet microbiol.* 146: 1-16.

German AJ, Bland PW, Hall EJ, Day MJ. 1998. Expression of major histocompatibility complex class II antigens in the canine intestine. *Vet Immunol Immunopathol.* 61:171–180

German, A.J., Helps, C.R., Hall, E.J., Day, M.J., 2000. Cytokine mRNA expression in mucosal biopsies from German Shepherd dogs with small intestinal enteropathies. *Dig Dis Sci.* 45: 7-17.

German A.J., Hall E.J., Day M.J. 2001. Immune cell populations within the duodenal mucosa of dogs with enteropathies. *J Vet Intern Med.* 15:14-25

German A.J., Hall E.J., Day M.J. 2003. Chronic intestinal inflammation and intestinal disease in dogs. *J Vet Intern Med.* 17: 8-20.

German A.J., Day M.J., Ruaux C.G., Steiner J.M., Williams D.A., Hall E.J. 2003. Comparison of direct and indirect tests for small intestinal bacterial overgrowth and antibiotic-responsive diarrhea in dogs. *J Vet Intern Med.* 17: 33-43.

- Gieger T. 2011. Alimentary lymphoma in cats and dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 41: 419-432
- Hall J.E. 1999. Clinical laboratory evaluation of small intestinal function. *Veterinary clinics: Small animal Practice.*
- Handa J.R., Weiser M.J. 2014. Gonadal steroid hormones and the hypothalamo-pituitary-adrenal axis, *Front Neuroendocrinol.* 35: 197 – 220.
- Harris L.J., Hughes K.L., Ehrhart E.J., Labadie J.D., Yoshimoto J., Avery A.C. 2019. Canine CD4+ T-cell lymphoma identified by flow cytometry exhibits a consistent histomorphology and gene expression profile. *Vet Comp Oncol.* 17:253-264.
- Hart J.R., Shaker E., Patnaik E., Carvey M.S. 1994. Lymphocytic-plasmacytic enterocolitis in cats: 60 cases (1988-1990). *J Am Anim Hosp Assoc.* 30: 505-514.
- Heilmann R.M, Suchodolski J.S. 2015. Is inflammatory bowel disease in dogs and cats associated with a Th1 or Th2 polarization? *Vet Immunol Immunopathol*, 168: 131-134. DOI: 10.1016/J.vetimm.2015.10.008
- Heilmann R.M., Steiner J.M. 2018. Clinical utility of currently available biomarkers in inflammatory enteropathies of dogs. *J Vet Intern Med.* 32: 1495-1508.
- Hendrick M. 1981. A spectrum of hypereosinophilic syndromes exemplified by six cats with eosinophilic enteritis. *Vet Pathol.* 18: 188-200.
- Hollander, F. 1954. The two-component mucous barrier: its activity in protecting the gastroduodenal mucosa against peptic ulceration. *AMA Arch Intern Med.* 93: 107-120
- Jaber J.R., Zafra R., Pérez J., Suárez-Bonnet A., González J.F., Carrascosa C., Andrada M., Arbelo M., Fernández A. 2013. Immunopathological study of parasitic colangitis in cetaceans. *Res Vet Sci.* 95: 556-561.
- Jacobs G., Collins-Kelly L., Lappin M., Tyler D. 1990. Lymphocytic plasmacytic in 24 dogs. *J Vet Intern Med.* 4: 45-53.
- Jergens A.E., Moore F.M., Haynes J.S., Miles K.G. 1992. Idiopathic inflammatory bowel disease in dogs and cats: 84 cases (1987-1990). *J Am Vet Med Assoc.*, 201: 1603-1608.
- Jergens A.E., Gamet Y., Moore F.M., Niyo Y., Tsao C., Smith B. 1999. Colonic lymphocyte and plasma cell populations in dogs with lymphocytic-plasmacytic colitis. *Am J Vet Res.* 60: 515-520.
- Jergens, A.E., Moore, F.M. 1999. Endoscopic biopsy specimen collection and histopathologic considerations. En: Tams T.R. (ed) *Small animal endoscopy. Segunda edición.* Mosby, St Louis.
- Jergens A.E. 2002. Feline inflammatory bowel disease – current perspectives on etiopathogenesis and therapy. *J Feline Med Surg.* 4: 175-178
- Jergens A.E. 2003. Managing the refractory case of feline IBD. *J Feline Med Surg.* 5: 47-50
- Jergens A.E., Schreiner C.A., Frank D.E., Niyo Y., Ahrens F.E. Eckersall P.D. 2003. A scoring index for disease activity in canine inflammatory bowel disease. *J. Vet. Intern. Med.* 17: 291-297
- Jergens A.E. 2004. Clinical assessment of disease activity for canine inflammatory bowel disease. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 40:437-445.

- Jergens A.E. 2012. Feline Idiopathic Inflammatory Bowel Disease: What we Know and what remains to be unraveled. *J Feline Med Surg.* 14:445-458.
- Jergens A.E., Simpson K.W. 2012. Inflammatory bowel disease in veterinary medicine, *Front Biosci.* 4: 1049 – 1419.
- Jergens A.E., Schreiner C.A., Dagmar E.F., Yosiya N., Franklin E.A., Eckersall P.D., Benson T.J., Evans R.A. 2003. Scoring Index for disease activity in canine inflammatory bowel disease. *J Vet Intern Med.* 17:291-297.
- Jergens A.E., Schreiner C.A., Frank De, Niyo Y, Ahrens F.E., Eckersall P.D., Benson T.J., Evans, R.A. 2003. A Scoring index for disease activity in canine inflammatory bowel disease. *J Vet Intern Med.* 17, 291-297 DOI:10.1111/j.1939-1676. 2003.tb02450.x
- Jergens A.E., Crandell J.M., Evans R., Achermann M., Miles K.G., Wang C. 2010. A clinical index for disease activity in cats with chronic enteropathy. *J. Vet Intern. Med.* 24: 1027- 1033.
- Jergens A.E., Evans R.B., Ackerman M., Hostetter J., Willard M., Mansell J., Bilzer T., Wilcock B., Washabau E., Hall E.J., Minami T., Wang C., Day M.J. 2014. Design of a simplified histopathologic model for gastrointestinal inflammation in dogs. *Degenerative and immune-mediated disease brief Communication on Vet Pathol.* 51:946-950
- Jergens A.E., Willard M.D., Allenspach K. 2016. Maximizing the diagnostic utility of endoscopic biopsy in dogs and cats with gastrointestinal disease. *Vet J.* 214: 50-60.
- Joy C.L., Patterson J.M. 1978. Short bowel syndrome following surgical correction of a double intussusception in a dog. *Case Report. Can Vet J.* 19: 254-259.
- Jubb, F.K., Kennedy C.P., Palmer N. 1985. *Pathology of domestic animals.* Vol. 2. Academic Press Inc., Florida.
- Junginger J., Schwittlick U., Lemensieck F., Nolte I., Hewicker-Trautwein M., 2012. Immunohistochemical investigation of Foxp3 expression in the intestine in healthy and diseased dogs. *Vet Res.* 22:43-23.
- Junginger J., Lemensieck F., Moore P.F., Schwittlick U., Nolte I., Hewicker-Trautwein M. 2014. Canine gut dendritic cells in the steady state and in inflammatory bowel disease. *Innate Immun.* 20:145-160.
- Kaser A., Blumberg R.S. (2011) *Autophagy, Microbial sensing, Endoplasmic Reticulum Stress, and Epithelial function in inflammatory bowel disease.*
- Larson D.W., Nelson H. 2009. *Colorectal Cancer: Laparoscopic Surgery. Methods of Cancer, Diagnosis, Therapy and Prognosis: Colorectal Cancer.* 4:271-289 Vol.4. Hayat M.A., Union N.J.
- Liddle R.A. 2019. *Neuropods.* *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.*7: 739 – 747.
- Lidell M.E., Moncada D.M., Chadee K., Hansson G.C. 2006. Entamoeba histolytica cysteine proteases cleave the MUC2 mucin in its C-terminal domain and dissolve the protective colonic mucus gel. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 103:9298 –9303
- Liebler-Tenorio E.M., Pabst R. 2006. Malt structure and function in farm animals. *Vet Res.* 37: 257-280
- Linden S.K., Sutton P., Karlsson N.G., Korolik V., McGuckin M.A. 2008. Mucins in the mucosal barrier to infection. *Review. Mucosal Immunol.* 1: 183-197

- Louvet A. y Denis B. 2004. Ultrasonographic diagnosis-small bowel lymphangiectasia in a dog. *Vet Radiol Ultrasound*, 45: 565-567.
- Mabbott NA, Donaldson DS, Ohno H, Williams IR and Mahajan (2013). Microfold (M) cells: important immunosurveillance posts in the intestinal epithelium. *Nature Review*. 6: 666-677.
- MacLachlan N.J., Breitschwerdt E.B., Chambers J.M., Argenzo R.A., De Buyscher E.V. 1988. Gastroenteritis of basenji dogs, *Vet Pathol*. 25: 36-41.
- Maeda S., Ohno K., Nakamura K., Uchida K., Nakashima K., Fukushima K., Nakajima M., Goto-Koshino Y., Fujino Y., Tsujimoto H. 2012. Increased expression of fractalkline and its receptor CX3CR1 in canine inflammatory bowel disease and their possible role in recruitment of intraepithelial lymphocytes. *Vet Immunol Immunopathol*, 148: 226-235.
- Maeda S., Ohno k., Fujiwara-Igarashi A., Uchida K., Tsujimoto H.2016.Changes in Foxp3-positive regulatory T Cell number in the intestine of dogs with idiopathic inflammatory Bowel Disease and Intestinal lymphoma. *Vet Pathol*. 53:102-112.
- Malizia G., Calabrese A., Cottone M., Raimondo M., Trejdosiewicz L.K., Smart C.J., Oliva L., Pagliaro L. 1991. Expression of leukocyte adhesion molecules by mucosal mononuclear phagocytes in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 100: 150-159.
- Marsilio S., Kleinschmidt S., Harder J., Nolte II, Hewicker-Trautwein M. 2010. Number and distribution of the immune cell in the tunica mucosa of the small and large Intestine of full-thickness biopsies from healthy pet cats. *Anat Histol Embryol*. 40: 61-67
- Marsilio S., Kleinschmidt S., Nolte I., Hewicker-Trautwein M. 2014. Immunohistochemical and Morphometric Analysis of Intestinal Full-thickness Biopsy Samples from Cats with Lymphoplasmacytic Inflammatory Bowel Disease. *J Comp Pathol*, 150: 416-423
- Martins T. B., Kommers G.D., Trost M.E., Inkelmann M.A., Figuera R.A., Schild A.L.A. 2012. Comparative of the histopathology and immunohistochemistry of Pythiosis in horses dogs and cattle. *J. Comp. Path.* 146:122-131.
- Matsuo K., Ota H., Akamatsu T., Sugiyama A., Katsuyama T. 1997. Histochemistry of the surface mucous gel layer of the human colon. *Gut*. 40: 782-789.
- Mayoral I, Peña L, Rodriguez-Franco A, Sainz A, Tesouro MA, Ynaraja E, 1996. Immunohistological study of IgA, IgG and IgM in endoscopic biopsies of dogs with plasmacytic-lymphocytic colitis. *Zentralblatt fur Veterinar- medizin B*, 43: 613-620.
- McGuckin M.A., Rajaraman E., Simms L.A., Florin T.H.J., Radford-Smith G. 2009. Intestinal barrier dysfunction in inflammatory bowel disease. *Basic science review. Inflamm Bowel Dis*. 15:100-113.
- McMahon L.A., House A.K., Cathpole B., Elson-Riggins J., Ridle A., Smith K., Werling D., Burgener I.A., Allenspach K. 2009. Expression of Toll-like receptor 2 in duodenal biopsies from dogs with inflammatory bowel disease is associated with severity of disease. *Vet Immunol Immunop*. 135:158-163
- Melzer K.J., Sellon R.K. 2002. Canine intestinal lymphangiectasia. *Compend Contin Educ Pract Vet*. 24: 953-961.
- Meschter C.L., Rakich P.M., Tyler D.E. 1987. Intestinal lymphangiectasia with lipogranulomatous lymphangitis in a dog. 190:427-430.

- Mitze S., Moser K., Teske E., Bomhard W.V., Stockhaus C. 2017. Correlation between the FCEAI and diagnostic parameters in chronic enteropathies in 147 cats (2006-2012). *Tierarztl Prax Ausg.* 45: 390-396.
- Moe, H. 1960. The ultrastructure of Brunner's glands of the cat. *J Ultrastruct Research.* 4:58-72.
- Moser K., Mitze S., Teske E., von Bomhard W., Stockhaus C. 2018. Correlation of clinical, diagnostic and histopathological parameters in dogs with chronic lymphocytic-plasmacytic enteropathy. *Tierarztl Prax Ausg Kleintiere Heimtiere.* 46, 15-20. DOI: 10.15654/TPK-170445
- Mowat A.M., Viney J.L. 1997. The anatomical bases of intestinal immunity. *Immunological Reviews.* Vol 156: 145-166
- Münster M., Horauf A., Bilzer T. 2006. Assessment of disease severity and outcome of dietary, antibiotic and immunosuppressive interventions by use of the canine ibd activity index in 21 dogs with chronic inflammatory bowel disease. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 119: 493-505.
- Neutra M.R., Kozlowski P. A. 2006. Mucosal vaccines: the promise and the challenge. *Nature, Reviews, Immunol.* 6: 148-158.
- Omori M., Maeda S., Igarashi H., Ohno K., Sakai K., Yonezawa T., Horigome A., Odamaki T., Matsuki N. 2017. Fecal microbiome in dogs with inflammatory bowel disease and intestinal lymphoma. *J Vet Med Sci.* 79: 1840-1847.
- Owen R.L., Jones A.L. 1974. Epithelial cell specialization within human peyer's patches: an ultrastructural study of intestinal lymphoid follicles. *Gastroenterology,* 66: 189-203
- Owen R.L., Pierce N.F., Apple R.T., Cray W.C. 1986. M cell transport of *Vibrio cholerae* from the intestinal lumen into peyer's patches: A mechanism for antigen sampling and for microbial transepithelial migration. *J Infect.* 153: 1108-1118
- Ozaki K., Yamagami T., Nomura K., Narama I. 2006. T – cell lymphoma with eosinophilic infiltration involving the intestinal tract in 11 dogs. *Vet Pathol.* 43: 339-344.
- Pácha J., Sumová A. 2013. Circadian regulation of epithelial functions in the intestine. *Acta Physiol.* 208: 11-24.
- Paoloni M.C., Penninck D.G., Moore A.S. (2002): "Ultrasonographic and clinicopathologic findings in 21 dogs with intestinal adenocarcinoma". *Veterinary Radiology & Ultrasound,* 43 (6): 562-567.
- Parker A., Vaux L., Patterson A.M., Modasia A., Muraro D., Fletcher A.G., Byrne H.M., Maini P.K., Watson A.J.M. and Pin C. 2019. Elevated apoptosis impairs epithelial cell turnover and shortens villa in TNF-driven intestinal inflammation. *Cell Death Dis.* 10: 108.
- Peterson P.B., Willard M.D. 2003. Protein-losing enteropathies. *Vet Clin Small Anim. Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 33: 1061-1082.
- Pierce E.S. 2018. Could *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis cause Crohn's disease, ulcerative colitis and colorectal cancer? *Pierce infectious agents and cancer.* 13:1.
- Prassinis N.N., Papazoglou L.G., Adamama-Moraitou K.K., Galatos A.D., Gouletsou P., Rallis T.S. 2003. Congenital anorectal abnormalities in six dogs. *Vet Rec.* 153: 81-85.

- Prinsen C.A.C., Mookink L.B., Bouter L.M., Alonso J., Patrick D.L., De Vet H.C.W., Terwee C.B. 2018. COSMIN guideline for systematic reviews of patient-reported outcome measures. *Qual Life Res.* 27: 1147-1157.
- Procoli F., Motsküla P.F., Keyte S.V., Priestnall S., Allenspach K. 2013. Comparison of histopathologic findings in duodenal and ileal endoscopic biopsies in dogs with chronic small intestinal enteropathies. *J Vet Intern Med.* 27: 268-274.
- Quigley E.M.M., Stanton C., Murphy E.F. 2013. The gut microbiota and the liver. Pathophysiological and clinical implications. *J Hepatol.* 58: 1020-1027.
- Rescigno M., Urbano M., Valzasina B., Francolini M., Rotta G., Bonasio R., Granucci F., Kraehenbuhl J.P., Ricciardi-Castagnoli. 2001. Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. *Nat Immunol.* 2: 361-367
- Rezza A., Sennett R., Rendl M. 2014. Adult stem cell niches: cellular and molecular components. *Curr Top Dev Biol.* 107: 334-372.
- Rhee S.H., Pothoulakis C., Mayer E.A. 2009. Principles and clinical of the brain-gut-enteric microbiota axis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 6: 306-314.
- Ridyard A.E., Nuttall T.J., Else R.W., Simpson J.W., Miller H.R.P. 2002. Evaluation of Th1, Th2 and immunosuppressive cytokine mRNA expression within the colonic mucosa of dogs with idiopathic lymphocytic-plasmacytic colitis. *Vet Immunol Immunopathol.* 86: 205-214.
- Roccabianca P., Woo J.C., Moore P.F. 2000. Characterization of the diffuse mucosal associated lymphoid tissue of feline small intestine. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 75: 27-42.
- Rosenkrans PCM, Meijer CJM, Van Der Wal AM. 1980. Immuno- globulin containing cells in inflammatory bowel disease of the colon: A morphometric study. *Gut* 21:941–947.
- Rossi G., Pengo G., Caldin M., Piccionello A.P., Steiner J.M., Cohen N.D.5, Jergens A.E., Suchodolski J.S. 2014. Comparison of microbiological, histological, and immunomodulatory parameters in response to treatment with either combination therapy with prednisone and metronidazole or probiotic VSL#3 strains in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *PLoS One.* 9(4):e94699. Doi: 10.1371/Journal.pone.0094699
- Rossi G., Cerquetella M., Antonelli E., Pengo G., Magi G.E., Villanacci V., Rostami-Nejad M., Spaterna A., Bassotti G. 2015. The importance of histologic parameters of lacteal involvement in cases of canine lymphoplasmacytic enteritis. *Gastroenterol Hepatol bed bench.* 8: 33-41
- Rychlik A., Nieradka R., Kander M., Nowicki M., Wdowiak M., Kolodziejska-Sawerska A. (2012). A correlation between the canine inflammatory bowel disease activity index score and the histopathological evaluation of the small intestinal mucosa in canine inflammatory bowel disease. *Pol. J. Vet. Sci.* 15: 315-321.
- Saffrey M.J. 2014. Aging of the mammalian gastrointestinal tract: a complex organ system. *Age* 36: 1019-1032.
- Salavati Schmitz S., Gow A., Bommer N., Morrison L., Mellanby R. 2019. Diagnostic features, treatment, and outcome of dogs with inflammatory protein-losing enteropathy. *J Vet Intern Med.* 33: 2005-2013.

- Sandoval J.J. Sistemas Viscerales. Anatomía veterinaria. 1975. Facultad de Veterinaria de Córdoba.
- Sattasathuchana P., Steiner J.M. 2014. Canine eosinophilic gastrointestinal disorders. *Animal Health Research Reviews*. 15: 76-86.
- Sayag D., Fournel-Fleury C., Ponce C. 2017. Prognostic significance of morphotypes in canine lymphomas: A systematic review of literature. *Vet Comp Oncol*. 16:12-19.
- Schofield, G.C. 1958. An experimental study of the argentophil cells in the glandular stomach of the rat. *Proc Univ Otago Med School*. 36: 2-3.
- Schmid-Schönbein G.W. 1990. Mechanisms Causing Initial Lymphatics to Expand and Compress to Promote Lymph Flow. *Review Arch. Histol Cytol*. 53: 107-114.
- Schreiner NMS, Gaschen F, Grone A, Sauter SN, Allenspach k. 2008. Clinical signs, histology, and CD3-positive cells before and after treatment of dogs with chronic enteropathies. *J Vet Intern Med*. 22:1079-1083.
- Simmerson S.M., Armstrong P.J., Wünschmann A., Jessen C.R., Crews L.J., Washabau R.J. 2014. Clinical features, intestinal histopathology, and outcome in protein-losing enteropathy in Yorkshire terrier dogs. 28:331-337.
- Simpson J.W. y Else R.W. 1991. *Digestive disease in the dog and cat*. Oxford Blackwell Publishing viii, 287 p.
- Simpson K.W. 1998. Diet and large intestinal disease in dogs and cats in *Nutrition and disease*. *J Nutr*. 128: 2717-2722
- Simpson K.W. 2007. *Enfermedades del Estómago. Tratado de Medicina Interna Veterinaria Enfermedades del perro y el gato. Tomo II. 6th edición*. Stephen J. Ettinger, Edward C. Feldman. Saunders. Philadelphia.
- Simpson K.W., Jergens A.E. 2011. Pitfalls and progress in the diagnosis and management of canine inflammatory bowel disease. *Vet. Clin. North Am Small Anim Pract*. 41: 381-398.
- Simpson K.W. 2013. Stomach. In: Washabau RJ and Day MJ (eds) *Canine and Feline Gastroenterology*. Missouri: Elsevier Saunder
- Sisson and Grossman's. Getty. R. *The Anatomy of the Domestic Animals*. 5th edition 1985. Philadelphia
- Smith P.D., MacDonald T.T., Blumberg R.S. 2013. *Principles of Mucosal Immunology*. Primera edición. Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC. New York
- Steiner J.M., *Small animal gastroenterology*. 2008, Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co.KG, Hans-Böckler-Allee 7, 30173 Hannover
- Steinman R.M., Cohn Z.A. 2007. Pillars article: Identification of a Novel cell type in peripheral Lymphoid organs of mice. I. Morphology, Quantitation, Tissue distribution. *J. Exp. Med*. 1973. 137: 1142-1162.
- Stonehewer J., Simpson J.W., Else R.W., Macintyre N. 1998. Evaluation of B and T lymphocytes and plasma cells in colonic mucosa from healthy dogs and from dogs with inflammatory bowel disease. *Res Vet Sci*. 65: 59-63.

- Sura R., Colomber J.F. Van Kruiningen H.J. 2011. Lymphatics, tertiary lymphoid organs and the granulomas of Crohn's disease: an immunohistochemical study. *Aliment Pharmacol Ther.* 33: 930-939.
- Suter M.M., Palmer D.G., Schenk H. 1985. Primary intestinal lymphangiectasia in Three dogs: A Morphological and Immunopathological Investigation. *Vet Pathol.* 22: 123-130 (PHOTO)
- Suter M.M., Palmer D.G., Schenk H. 1985. Primary intestinal lymphangiectasia in three dogs: a morphological and immunopathological investigation. *Vet. Pathol.* 22: 123-130.
- Sutherland-Smith J., Penninck D.G., Keating J.H., Webster C.R.L. 2007. Ultrasonographic intestinal hyperechoic mucosal striations in dogs are associated with lacteal dilation. *Ultrasound.* 48: 51-57
- Tams T.R. 1993. Feline Inflammatory bowel disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1993. 23: 569-586.
- Tertychnyi A.S., Akhrieva K.M., Zayratyants O.V., Selivanova L.S., Birg T.M. 2016. Somatostatin receptor expression in the ileal mucosa of patients with inflammatory bowel disease. *Arkh Patol.* 78: 19-24.
- Teske E., Wisman P., Moore P.F., van Heerde P. 1994. Histologic classification and immunophenotyping of canine non-Hodgkin's lymphomas: unexpected high frequency of T cell lymphomas with B cell morphology. *Experimental Hematology.* 22: 1179-1187.
- Tokuhara D., Nochi T., Matsumura A., Mejima M., Takahashi Y., Kurokawa S., Kiyono H., Yuki Y. 2014. Specific expression of apolipoprotein A-IV in the follicle-associated epithelium of the small intestine. *Dig Dis Sci.* 59:2682-2692
- Tokuhara D., Kurashima Y., Kamioka M., Nakayama T., Ernst P., Kiyono H. 2019. A comprehensive understanding of the gut mucosal immune system in allergic inflammation. *Allergol Int.* 68: 17-25
- Turner J.R. 2009. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nat. Rev Immunol.* 9: 799-809.
- Van Haagen, A. V., Sherding, R. G., Washabau, R. J., Lobetti, R., Willard, M. D. 2013. *Esophagus in Canine and Feline Gastroenterology* 570–605 Elsevier, Amsterdam.
- Van Kruiningen H.J., Lees G.E., Hayden D.W., Meuten D.J., Rogers W.A. 1984. Lipogranulomatous lymphangitis in canine intestinal lymphangiectasia. *Vet Pathol.* 21: 377-383.
- Van Nguyen N, Taglinger K, Helps CR, Tasker S, Gruffydd-Jones TJ et al. 2006. Measurement of cytokine mRNA expression in intestinal biopsies of cats with inflammatory enteropathy using qualitative real-time RT-PCR. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 113, 404-414.
- Vibe-Petersen G, 1991. Canine lymphocytic plasmacytic enteritis: an immunopathological investigation of intestinal plasma cells. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 32, 221-232.
- Vorobjova T., Tagoma A., Oras A., Alnek K., Kisand K., Talja I., Uibo O., Uibo R. 2019. Celiac disease in children, particularly with accompanying type 1 Diabetes, is characterized by substantial changes in the blood cytokine balance, which may reflect inflammatory processes in the small intestinal mucosa. *J. Immunol. Res.* ID 6179243.
- Walker D., Knuchel-Takano A., McCutchan A., Chang Y-M., Downes C., Miller S., Stevens K., Verheyen k., Phillips A.D., Miah S., Turmaine M., Hibbert A., Steiner J.M., Suchodolski J.S., Mohan

- K., Eastwood J., Allenspach K., Smith K., Garden O.A. 2013. A comprehensive pathological survey of duodenal biopsies from dogs with diet-responsive chronic enteropathy. *J Vet Intern Med.* 27:862–874
- Waly N.E., Stokes C.R., Gruffydd-Jones T.J., Day M.J. 2004. Immune cell populations in the duodenal mucosa of cats with inflammatory bowel disease. *J Vet Intern Med.* 18: 816-825.
- Waly N.E., Gruffydd-Jones T.J., Stokes C.R., Day M.J. 2005. Immunohistochemical diagnosis of alimentary lymphomas and severe intestinal inflammation in cats. *J Comp Pathol.* 133: 253-260.
- Washabau R.J., Day M.J. 2013. *Canine and Feline Gastroenterology.* Elsevier. St. Louis.
- Washabau R.J., Day M.J., Willard M.D., Hall E.J., Jergens A.E., Mansell J., Minami T., Bilzer T.W. 2010. Endoscopic, biopsy, and histopathologic guidelines for the evaluation of gastrointestinal inflammation in companion animals. ACVIM Consensus statement. *J. Vet. Intern. Med.*, 24:10-26.
- Washabau R.J., Hall J.A. 1997. Diagnosis and management of gastrointestinal motility disorders in dogs and cats. *New! Continuing Education Series.* 19:6
- Wennogle S.A., Priestnall S.L., Webb C.B. 2017. Histopathologic characteristic of intestinal biopsy samples from dogs with chronic inflammatory enteropathy with and without hypoalbuminemia. *J Vet Intern Med.* 31: 371-376.
- Wennogle S.A., Priestnall S.L., Suárez-Bonnet A., Soontarak S., Webb C.B. 2019. Lymphatic endothelial cell immunohistochemical markers for evaluation of the intestinal lymphatic vasculature in dogs with chronic inflammatory enteropathy. *J Vet Intern Med.* 33:1669-1676.
- Wennogle S.A., Priestnall S.L., Suárez-Bonnet A., Webb C.B. 2019. Comparison of clinical, clinicopathologic, and histologic variables in dogs with chronic inflammatory enteropathy and low or normal serum 25-hydroxycholecalciferol concentrations. *Journal of Veterinary Internal Medicine.*
- Westermarck E., Wiberg M. 2003. Exocrine pancreatic insufficiency in dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 33: 1165-1179.
- Westermarck E., Skrzypczak T., Harmoinen J., Steiner J.M., Ruaux C.G., Williams D.A., Eerola E., Sundbäck P., Rinkinen M. 2005. Tylosin-responsive chronic diarrhea in dogs. *J Vet Intern Med.* 19: 177-186.
- Wilke V.L., Nettleton D., Wymore J. Meghan, Gallup J. M., Demirkale C. Y., Ackermann M.R., Tuggle C.K., Ramer-Tait A.E., Wannemuehler M.J. Jergens A.E. 2012. Gene expression in intestinal mucosal biopsy specimens obtained from dogs with chronic enteropathy. *Am J Vet Res.* 73:1219-1229
- Wilcock B. en Washabau R.J. y Day M.J. 2013. *Histopathology. Canine and Feline Gastroenterology.* p. 351.
- Willard M.D., Helman G., Fradkin J.M., Becker T., Brown R.M., Lewis B.C., Weeks B.R. 2000. Intestinal crypt lesions associated with protein-losing enteropathy in the dog. *J Vet Intern Med.* 14: 298-307.
- Willard, M.D., Lovering, S.L., Cohen, N.D., Weeks, N.D. 2001. Quality of tissue specimens obtained endoscopically from the duodenum of dogs and cats. *J Am vet med assoc.* 219 : 474-479.

Willard M.D., Zenger E., Mansell J.L. 2003. Protein Losing enteropathy associated with cystic mucoid changes in the intestinal cripts of two dog. J Am Anim Hosp Assoc. Mar/Apr 2003; 39, 2; ProQuest pg. 187.

Willard M.D., Mansell J., Fosgate G.T., Gualtieri M., Olivero D., Lecoindre P., Twedt D.C., Collett M.G., Day M.J., Hall E.J., Jergens A.E., Simpson J.W., Else R.W., Washabau R.J. 2008. Effect of sample quality on the sensitivity of endoscopic biopsy for detecting gastric and duodenal lesions in dogs and cats. J Vet Intern Med. 22: 1084-1089.

Willard M.D., Moore G.E., Denton B.D., Day M.J., Mansell J., Bilzer T., Wilcock B., Gualtieri M., Olivero D., Lecoindre P., Twedt D.C., Collett M.G., Hall E.J., Jergens A.E., Simpson J.W., Else R.W., Washabau. 2010. Effect of tissue processing on assessment of endoscopic intestinal biopsies in dogs and cats. J Vet Intern Med. 24: 84-89.

Williams J.M., Duckworth C.A., Burkitt M.D., Watson A.J.M., Campbell B.J., Pritchard D.M. 2015. Epithelial cell shedding and barrier function: a matter of life and death at the small intestinal villus tip. Vet Pathol. 52:445-455.

Yaeger M.J., Gookin J.L. 2005. Histologic features associated with Tritrichomonas foetus-induced colitis in domestic cats. Vet Pathol. 42: 797-804.

Zandvliet M. 2016. Canine lymphoma: a review. Vet Q. 36: 76-104.

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a mi familia por el apoyo prestado, a mi hijo David y a mi esposa Silvia son la razón de la perseverancia en el trabajo y dar lo mejor de mí.

Sobre todo, a mis padres por haber dado a su hijo apoyo, tanto en los momentos duros de los estudios emprendidos y de la carrera y siempre estar ahí cuando los necesito, sin ellos no estaría ahora mismo escribiendo esta tesis doctoral.

A todos y cada uno de mis profesores desde la primaria hasta el final de esta etapa universitaria por su paciencia conmigo, muchas gracias por haber confiado en mí y por haberme dado la oportunidad de conseguir después de tantos años este logro personal.

Especialmente se lo debo a mi tutor y codirector el Dr. José Raduan Jaber Mohammad por su apoyo y comprensión durante toda la etapa del proceso de resolución de esta tesis, muchas gracias "Radu", ha sido un camino duro y complicado, gracias por darme la oportunidad de investigar y por tu paciencia.

Al Dr. Francisco Rodríguez Guisado por su generosidad y comprensión, y por haberme ofrecido la oportunidad de investigar.

A estos dos amigos sencillamente gracias por abrirme las puertas y formarme como investigador por sus enseñanzas y por sus sugerencias en la tesis.

Al Dr. Alejandro Suárez Bonnet por su generosidad y ayuda en el master y en la estancia.

Al Dr. Antonio Ravelo García por su guía y enseñanza en la parte matemática.

A los Dres. Pablo Lupiola Gómez, Félix Acosta Arbelo y Conrado Carrascosa, por estar siempre escuchándome su apoyo y energía positiva, que buen equipo.

Al Dr. Alberto Arencibia por aconsejarme y guiarme en los momentos difíciles.

A mi cuñado Michel por su apoyo técnico.

A los amigos y compañeros veterinarios, algunos son mi referente en investigación.

Para todos aquellos profesores de la vida, de experiencias tanto profesionales como de vivencias que me han seguido y acompañado durante mi etapa de estudiante, profesional y en esta última etapa educativa.

Muchas gracias por vuestro apoyo y comprensión, os estoy muy agradecido.