

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



TESIS:

DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA E HISTOQUÍMICA DE ÓRGANOS
LINFOIDES EN LA LLAMA (*Lama glama*)

Presentada por:

Bach. DARWIN WILSON MURIEL
HUILLCA

Para optar al título profesional de:

MÉDICO VETERINARIO.

ASESORES:

PhD. Pedro Walter Bravo Matheus.

Mg.Sc. Julio Enrique Ramírez Huanca.

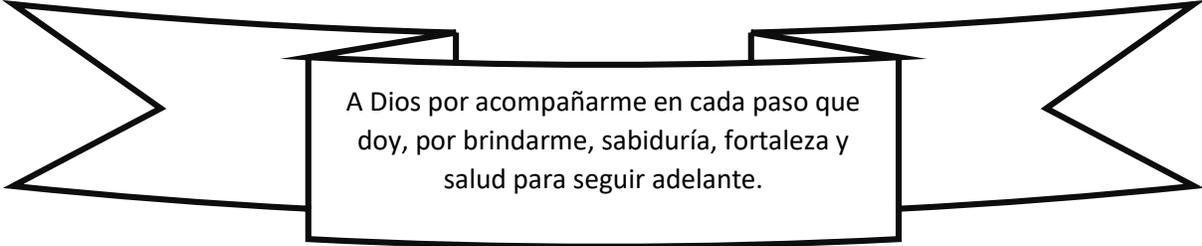
M.V.Z. Fernando Samuel Paredes Baca.

FINANCIADO POR EL PROYECTO: “Implementación de la Microscopia Virtual para
Mejorar el Proceso de Enseñanza Aprendizaje en la Escuela Profesional de Medicina
Veterinaria”

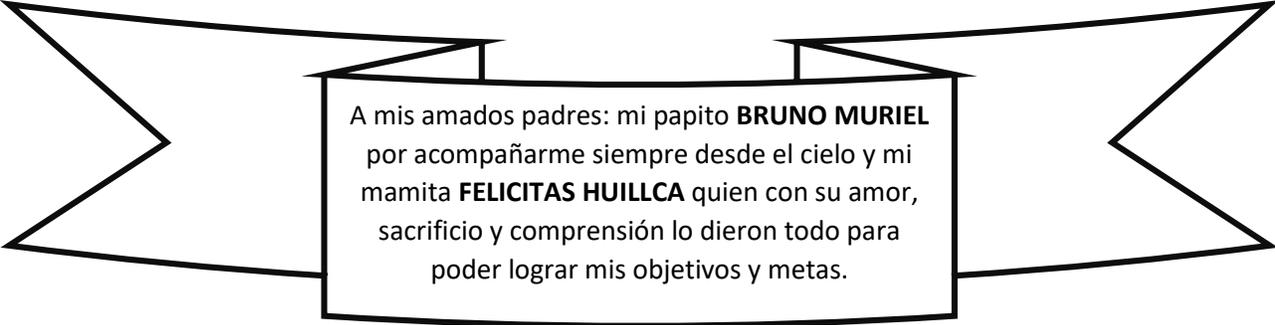
CUSCO – PERU

2023

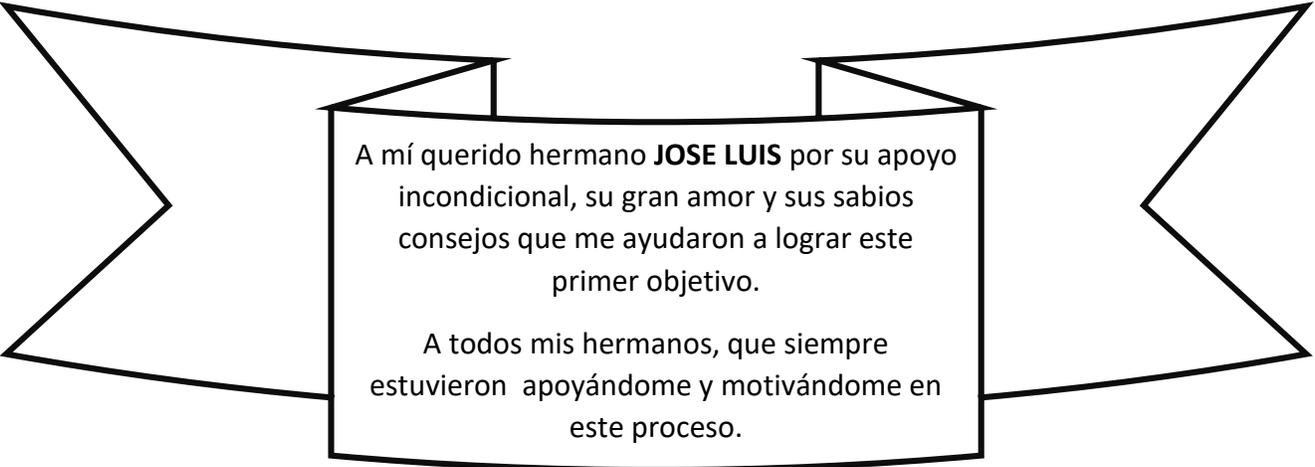
DEDICATORIA



A Dios por acompañarme en cada paso que doy, por brindarme, sabiduría, fortaleza y salud para seguir adelante.



A mis amados padres: mi papito **BRUNO MURIEL** por acompañarme siempre desde el cielo y mi mamita **FELICITAS HUILLCA** quien con su amor, sacrificio y comprensión lo dieron todo para poder lograr mis objetivos y metas.



A mí querido hermano **JOSE LUIS** por su apoyo incondicional, su gran amor y sus sabios consejos que me ayudaron a lograr este primer objetivo.

A todos mis hermanos, que siempre estuvieron apoyándome y motivándome en este proceso.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por haberme encaminado a obtener el grado académico y guiar mis pasos.

A la Universidad Nacional de San Antonio Abad Del Cusco en especial a la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria, por ser alma mater de mi formación profesional.

Al asesor principal de mi tesis PhD. Pedro Walter Bravo Matheus, por brindarme la oportunidad de recurrir a su gran capacidad y experiencia profesional, por contribuir todos sus conocimientos para realizar el presente trabajo de investigación.

A los Asesores de mi tesis Mg.Sc. Julio Enrique Ramírez Huanca y al M.V.Z. Fernando Samuel Paredes Baca por su paciencia, sus valiosos aportes y consejos que hicieron posible la culminación del presente trabajo de investigación.

A Milagros Avendaño, una persona especial que con su apoyo incondicional fue la impulsora para culminar este proyecto.

Al proyecto de investigación “Implementación de la microscopia virtual para mejorar el proceso de enseñanza – aprendizaje” por apoyar la realización de este proyecto.

INDICE DE CONTENIDO

Contenido

I	CAPITULO	3
1.1	Identificación del problema objeto de la investigación.....	3
1.1.1	Identificación del problema de investigación.	3
1.1.2	Planteamiento del problema.....	3
II	CAPITULO	4
2.1	Objetivos y Justificación	4
2.1.1	Objetivos.....	4
2.1.2	Justificación	4
2.2	Revisión bibliográfica	5
2.2.1	Aspectos generales de la llama (lama glama).....	5
2.3	Antecedentes de Investigación Histológica en Camélidos Sudamericanos	6
2.4	Sistema Inmunológico.....	9
2.4.1	Sistema Inmunológico	9
2.4.2	Células del sistema inmunológico	9
2.5	Órganos Linfoides	10
2.5.1	Timo.....	10
2.5.2	Bazo	15
2.5.3	Linfonodos	18

2.5.4	Tonsilas	20
2.5.5	Placas de Peyer	22
2.6	Métodos de estudio histológico.....	24
2.6.1	Tinción hematoxilina eosina.....	24
2.6.2	Técnicas histoquímicas	24
2.6.3	Impregnación argéntica.....	25
III	CAPITULO	26
3.1	Materiales y métodos	26
3.1.1	Ubicación del experimento	26
3.1.2	Descripción de los métodos	26
3.1.3	Materiales.....	27
3.1.4	Descripción de las actividades.....	28
IV	CAPITULO	40
4.1	Resultados y discusión	40
4.1.1	Análisis histológico del timo	40
4.1.2	Análisis histológico del bazo	49
4.1.3	Análisis histológico del linfonodo	56
4.1.4	Análisis histológico de las tonsilas	64
4.1.5	Análisis histológico de las placas de Peyer	68
V	CAPITULO	72

5.1	Conclusiones	72
5.2	Recomendaciones.....	73
VI	CAPITULO	74
6.1	Anexos.....	79

INDICE DE FIGURAS

Figura. 1	Flujograma del proceso de lavado y aclaramiento de las muestras.....	31
Figura. 2	Flujograma del proceso de inclusión en parafina.....	31
Figura. 3	Esquema de corte.....	33
Figura. 4	Flujograma de deshidratación e hidratación.	34
Figura. 5	Timo de llama.	41
Figura. 6	Cápsula del timo.	41
Figura. 7	Trabécula del timo de llama.	42
Figura. 8	Parénquima del timo de llama.	42
Figura. 9	Cápsula y corteza del timo.....	44
Figura. 10	Corteza del timo.....	44
Figura. 11	Células reticuloepiteliales.	45
Figura. 12	Unión corticomedular.	45
Figura. 13	Médula del timo.	47
Figura. 14	Médula del Timo.....	47
Figura. 15	Célula reticuloepitelial degenerada del timo.....	48
Figura. 16	Corpúsculo de Hassal.....	48
Figura. 17	Cápsula del bazo.....	50
Figura. 18	Cápsula del bazo.....	50
Figura. 19	Trabécula.	51
Figura. 20	Seno trabecular.....	51
Figura. 21	Pulpa blanca.....	53
Figura. 22	Pulpa blanca.....	53

Figura. 23 Pulpa roja.....	54
Figura. 24 Pulpa roja.....	55
Figura. 25 Cápsula.....	57
Figura. 26 Cápsula.....	57
Figura. 27 Seno capsular.....	58
Figura. 28 Corteza del linfonodo.....	59
Figura. 29 Folículo linfoide secundario.....	60
Figura. 30 Folículo linfoide.....	60
Figura. 31 Vénula de endotelio alto.....	61
Figura. 32 Médula del linfonodo.....	62
Figura. 33 Seno medular.....	62
Figura. 34 Médula.....	63
Figura. 35 Tonsila palatina.....	66
Figura. 36 Epitelio estratificado.....	66
Figura. 37 Fibras reticulares.....	67
Figura 38. Vénula de endotelio alto de la Tonsila Palatina.....	67
Figura. 39 Placa de peyer- colon.....	69
Figura. 40. Placas de peyer-yeyuno.....	69
Figura. 41 Región luminal.....	70
Figura. 42. Fibras reticulares.....	70
Figura. 43. Vénula de endotelio alto.....	71

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Protocolo de tinción de hematoxilina y eosina.	35
Tabla 2. Protocolo de tinción Tricromico de Masson.....	36
Tabla 3. Protocolo de tinción de reticulina de Gordon Sweet.....	37

Anexos

Anexo 1. Ejemplares para colección de muestras.....	79
Anexo 2. Bazo de llama para listo para corte de muestras	79
Anexo 3. Muestras de diferentes órganos para transporte al laboratorio de histología y patología.....	80
Anexo 4. Colocación de las muestras en los cassetes.....	80
Anexo 5. Proceso de elaboración del taco histológico.....	81
Anexo 6. Tacos histológicos en la plancha de enfriamiento.	81
Anexo 7. Proceso de corte de tacos histológicos.	82
Anexo 8. Tinción de láminas histológicas.	82
Anexo 9. Láminas histológicas obtenidas.....	83

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Histología y Patología de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria filial Sicuani de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. El objetivo fue describir Histológica e Histoquímicamente los órganos linfoides en las llamas (timo, bazo, linfonodo, tonsilas y Placas de Peyer), se utilizaron 10 llamas menores de 2 años de edad clínicamente sanas, los órganos fueron diseccionados, y procesados mediante técnica histológica de inclusión en parafina; los cortes fueron coloreados con hematoxilina y eosina (distribución celular), para la técnica histoquímica se utilizó Tricrómico de Masson (fibras colágenas y musculares), y tinción de Reticulina de Gordon Sweet (fibras reticulares) para evaluación histológica con microscopía óptica. El timo presenta lobulillos confluyentes en la región medular, donde se visualizaron corpúsculos de Hassal. El bazo presenta una pulpa blanca y roja características, la cápsula posee dos estratos, conjuntivo externo y muscular interno, este último evidentemente más grueso compuesto por dos estratos desde los cuales se proyectan trabéculas hacia el parénquima. Los linfonodos no presentan diferenciación clara entre corteza y médula, las vénulas de endotelio alto se distribuyen por toda la corteza mientras en la médula presenta abundante cantidad de senos linfáticos. Las tonsilas están conformadas por grupos de folículos linfoides cubiertos por epitelio escamoso estratificado queratinizado que cambia a epitelio estratificado escamoso no queratinizado en las criptas. Las placas de Peyer son cúmulos de tejido linfático presente en la mucosa del intestino, están cubiertas por un epitelio especializado con células transportadoras de antígenos.

Palabras clave: Bazo, linfonodo, llama, placas de Peyer, tonsilas, timo.

INTRODUCCION

Los camélidos sudamericanos son mamíferos herbívoros considerados pseudorumiantes, que habitan en nuestro país, representan un importante medio de ingresos económicos para el sector pecuario de las poblaciones andinas, debido a que proporcionan productos como fibra, carne (charqui), piel (tacllas), estiércol (combustible) y cuero. Además, son utilizados como mascotas en el turismo (Avilés et al., 2018).

Debido a su adaptación a climas adversos, su gran capacidad para utilizar los recursos alimenticios de limitada calidad, así como a su tolerancia a una serie de enfermedades, las llamas constituyen un recurso estratégico para la seguridad alimentaria de la población altoandina, siendo una actividad económica importante para los productores con escasos recursos económicos y empresas comunales (Rodríguez et al., 2021).

Según el último censo la población total de llamas a nivel del Perú es de 1 226 231 animales (INEI, 2014)

Las especies superiores como los mamíferos y entre ellas las llamas cuentan con un complicado sistema de vigilancia y defensa capaz de responder a agentes externos o internos que posean capacidad inmunogénica. Este sistema está conformado principalmente por grupos de linfocitos presentes en órganos especializados, dependiendo de su función podríamos clasificarlos en tres grupos: (1) órganos fuente de células linfoides, (2) órganos linfoides primarios y (3) órganos linfoides secundarios (Tizard, 2018). También existen otras formas de clasificación del sistema inmune y siendo el más usual mencionar la clasificación realizada por Gutiérrez, (2010) quien divide a estos órganos en (a) órganos linfáticos primarios en los cuales se diferencian y seleccionan linfocitos, están constituidos por el timo, la bolsa de Fabricio (en las aves), las placas de Peyer localizadas en el íleon y la médula ósea; (b) órganos linfáticos secundarios en los cuales se genera el microambiente necesario para iniciar la respuesta

inmune, y entre estos podemos mencionar el apéndice cecal, el tejido linfoide asociado a mucosas (MALT) y los linfonodos. En cuanto a las células que forman parte de los órganos mencionados anteriormente, se componen principalmente de linfocitos T y B; así mismo, se debe considerar a otras células como las células dendríticas.

La conformación estructural histológica de los órganos linfoides fue estudiada para mayoría de especies domésticas, pero no se encuentran estudios en llamas, por lo tanto, es preciso efectuar una descripción detallada de los elementos, tipos celulares y estructura de los diferentes órganos linfoides, las mismas que poseen gran importancia intrínseca y permitirán tener una mejor idea sobre los mecanismos fisiopatológicos de la inmunidad en esta especie.

I CAPITULO

1.1 Identificación del problema objeto de la investigación

1.1.1 Identificación del problema de investigación.

La llama (*Lama glama*), es una especie autóctona de nuestra región Cusco, en la cual hay un limitado conocimiento acerca de su composición y comportamiento biológico entre ellos mencionar la ausencia de estudios sobre la anatomía microscópica de los órganos que comprende el sistema inmune, además de las estructuras que conforman estos órganos en las llamas.

1.1.2 Planteamiento del problema

Los tejidos linfáticos son los sitios donde los linfocitos proliferan, se diferencian y maduran. El sistema linfático está compuesto por un grupo de células, tejidos y órganos que vigilan las superficies corporales y los compartimentos internos, y reaccionan frente a la presencia de sustancias potencialmente nocivas; los linfocitos constituyen el tipo celular que define al sistema linfático y son las células efectoras ante sustancias nocivas; este sistema incluye el tejido linfático difuso, los nódulos linfáticos, el bazo, la médula ósea y el timo (Pawlina & Ross, 2015).

La estructura histológica de los órganos linfoides se estudiaron y establecieron en un gran número de especies domésticas, sin embargo; no se encuentran estudios en camélidos sudamericanos, especialmente en las llamas, por lo cual es necesario realizar una caracterización histológica e histoquímica de los órganos que componen el sistema inmune en esta especie para responder las siguientes preguntas: ¿Cómo están organizados histológicamente los órganos linfoides en las llamas?, ¿Qué tipos de tejidos conforman los órganos linfoides en la llamas? y ¿Qué tipos de células están presentes en las distintas estructuras linfoides?

II CAPITULO

2.1 Objetivos y Justificación

2.1.1 Objetivos

Objetivo general

- Describir histológica e histoquímicamente los órganos y estructuras linfoides en la llama.

Objetivos específicos

- Describir las características histológicas del timo.
- Describir las características histológicas del bazo.
- Describir las características histológicas del linfonodo.
- Describir las características histológicas de las tonsilas.
- Describir las características histológicas de las placas de Peyer.

2.1.2 Justificación

La llama constituye el principal recurso económico de subsistencia de los pobladores de las regiones alto andinas de nuestro país, a través del aporte de carne, fibra, y otros subproductos además de ser usado como un medio de transporte; se conoce que el sistema inmune es un sistema complejo e integrado cuya función principal es proteger al organismo de agresiones externas por parte microorganismos, alérgenos y agentes tóxicos (Brüel et al., 2015). Por su parte la histología estudia los tejidos que componen los órganos y sistemas del organismo; así mismo aporta los conocimientos estructurales que son necesarios para comprender el funcionamiento normal del organismo, de esa manera otorga bases histológicas que favorecen al entendimiento de la fisiología y patología (Brusco et al., 2014).

Aún no se encuentran avances que aporten conocimientos respecto a la histología de los órganos linfoides en la llama. Por ello, este trabajo ayudará a sentar bases histológicas para

conocer los componentes estructurales, tipos celulares y tejido que los conforman cada uno de los órganos linfáticos de la llama, apoyándonos de la técnica histológica utilizamos tinciones de hematoxilina y eosina como tinción base para visualizar la estructura histológica de cada órgano, además de técnicas histoquímicas como: la tinción tricrómica de Masson para diferenciar de manera específica el tejido conectivo y muscular, finalmente se utilizó una técnica de impregnación argéntica para poder visualizar las fibras reticulares presentes en los tejidos.

Este estudio beneficiará directamente a catedráticos, investigadores y profesionales e indirectamente a criadores de camélidos y comunidad en general al ser un estudio que genere conocimiento que sirva como base para posteriores investigaciones.

2.2 Revisión bibliográfica

2.2.1 Aspectos generales de la llama (*Lama glama*)

La llama (*Lama glama*) es el camélido sudamericano de mayor tamaño; de la cual existen dos razas, Chaku y K'ara, que se diferencian una de otra por el nivel de cobertura de fibra en su cuerpo, puede llegar a un peso adulto de 100 a 120 kg. Se utilizan para el abastecimiento de carne, produce fibra la cual tiene uso en artesanías (García & Mayta, 2018).

Las llamas toman diferentes denominaciones de acuerdo a su edad, como ser:

“Crías (uñaicos) reciben este nombre desde el momento de nacimiento hasta el destete (7 a 8 meses de edad).

Ancutas: este grupo etario es conformado por las llamas hembras desde el primer año hasta su primer parto.

Madres o vientres: Denominación que se da a las hembras a partir del primer parto.

Reproductor, Jañachos o hechores: son machos en edad reproductiva, debidamente seleccionados para la monta, cuya aptitud se logra generalmente a partir de los 3 años de edad.

Capones: son machos que fueron castrados y descartados como reproductores.

Hembras vacías: son hembras en promedio de dos años de edad listas para empadre” (Quispe et al., 2015).

En nuestro país la población total de llamas fue de 1 226 231 animales (INEI, 2014).

2.3 Antecedentes de Investigación Histológica en Camélidos Sudamericanos

Ez-Elarab et al., (2022) tuvieron como objetivo explorar la ultraestructura de las amígdalas palatinas de los burros. Las amígdalas palatinas de cinco burros machos (5 años) fueron estudiadas, la superficie exterior estaba cubierta por epitelio escamoso estratificado que cambia a epitelio reticular invadido por linfocitos en la cripta, los nódulos linfoides organizados son primarios y secundarios, los secundarios poseen un centro germinal claro, en el área interfolicular se pueden observar vénulas endoteliales altas y capilares sanguíneos, las vénulas endoteliales se encuentran revestidas por epitelio cúbico simple con algunos linfocitos. Los capilares sanguíneos tenían glóbulos rojos y neutrófilos. La amígdala estaba rodeada de forma incompleta por una cápsula de tejido conectivo con glándulas mucosas debajo de esa cápsula.

Zidan & Pabst, (2020) realizaron un estudio histológico para el cual fueron recolectadas y estudiadas macroscópica y microscópicamente las amígdalas linguales de 10 camellos (3 -25 años). Las amígdalas linguales se localizaron en la raíz de la lengua de camellos de todas las edades en forma de varios nódulos macroscópicos esféricos que sobresalían en la orofaringe. Cada nódulo posee una sola cripta central, cubierto con epitelio escamoso estratificado queratinizado sin células M y rodeado por una cápsula incompleta. Cada cripta amigdalina está revestida de epitelio escamoso estratificado no queratinizado con infiltración

linfocitaria formando placas de linfoepitelio o epitelio reticular. Las áreas interfoliculares tienen linfocitos difusos, entre estos linfocitos se observaron vénulas de alto endotelio, macrófagos, células dendríticas y células plasmáticas.

Al-Ramadán & Alluwaimi, (2018) realizaron un estudio en camellos en el cual procesaron amígdalas de 12 camellos para tinción H&E y mostraron que las amígdalas palatinas se forman de nódulos solitarios y agregados en el que los linfocitos se distribuyen en áreas foliculares e interfoliculares, están cubiertos por un epitelio escamoso estratificado no queratinizado el cual cambia a epitelio no queratinizado en las criptas.

Cotrina, (2017) realizó un estudio titulado Histología del bazo en gatos (*Felis silvestris catus*), en dos periodos de desarrollo en Cajamarca, con el objetivo de describir la constitución histológica de los tejidos del bazo de gatos jóvenes hasta 1 año de edad y adultos mayores de 1 año de edad. Los estudios histológicos revelaron que el bazo de gatos se encuentra constituido por tres tejidos importantes: 1) El Estroma (Cápsula y Trabéculas), 2) Parénquima Esplénico de la Pulpa Blanca, 3) El parénquima esplénico de la pulpa roja. El estroma constituido por fibras colágenas y fibras musculares lisas. El parénquima esplénico de la pulpa blanca, constituido por los nódulos linfáticos de Malpighi. La pulpa esplénica roja, formada por capilares sinusoidales, células linfoides, células libres del tejido conectivo, macrófagos, plasmocito, sangre, nódulos conectivos, senos o sinusoides esplénicas (tabiques), macrófagos libres y elementos de la sangre circulante (polinucleares y glóbulos rojos), arteriolas periféricamente al nódulo linfático, dentro de una malla linforreticular distribuida por todo el bazo.

Zidan & Pabst, (2015) estudiaron los ganglios linfáticos preescapulares, femorales y mesentéricos de cinco búfalos mediante microscopía óptica y electrónica de transmisión. Los ganglios están rodeados por una fina cápsula de tejido conjuntivo denso y músculos lisos; los

senos linfáticos subcapsulares y trabeculares están revestidos con células endoteliales que están sobre una membrana basal. La corteza está formada por folículos linfoides y linfocitos interfoliculares. Se observaron folículos primarios y secundarios. La médula está formada por cordones medulares de linfocitos separados por senos linfáticos. Estos senos a su vez revestidos con un epitelio discontinuo y curiosamente atravesados por fibras reticulares. Se encontraron vénulas de alto endotelio en la zona paracortical. Se observaron varios linfocitos infiltrando la pared de estas vénulas.

Roca et al., (2014) realizaron la investigación que llevó por título “Caracterización histológica y dinámica linfoide de las placas de Peyer en crías de alpaca durante los 45 primeros días de vida” llegando a las conclusiones: que el tejido linfoide asociado al intestino está completo desde el nacimiento de la cría de alpaca y está activo gracias al estímulo de los primeros antígenos de la microbiota del intestino.

Mohamed & Reinhard, (2012) estudiaron los ganglios preescapulares, femorales, mesentéricos, mediastínicos y esplénicos de nueve camellos de uno a 12 años de edad. No hubo diferencias estructurales obvias entre estos diferentes ganglios linfáticos o entre las edades. Los ganglios linfáticos están rodeados por una cápsula formada por dos capas, una capa externa de tejido conectivo y una capa interna más delgada principalmente de músculos lisos. Las trabéculas se extendían desde la capa interna de la cápsula dividiendo el parénquima característicamente en lóbulos incompletos. Los senos linfáticos subcapsulares y trabeculares están sostenidos por una red de fibras reticulares. El parénquima estaba dispuesto en forma de folículos linfoides y tejido linfoide interfolicular. En la zona interfolicular se encontraron senos linfáticos y vénulas de endotelio alto. Los senos linfáticos están revestidos por células endoteliales discontinuas. La pared de las vénulas endoteliales altas está infiltrada por varios linfocitos.

2.4 Sistema Inmunológico

2.4.1 Sistema Inmunológico

El sistema inmunológico está conformado por varios órganos, células y moléculas; evolucionó para proteger a los organismos multicelulares contra agentes patógenos. Este sistema es altamente adaptable y defiende al cuerpo contra invasores que comprenden desde los pequeños virus intracelulares, hasta tan grandes como los parásitos (Owen et al., 2014).

2.4.2 Células del sistema inmunológico

Linfocitos

Los linfocitos son células que después del nacimiento se producen en la médula ósea de los huesos largos y concluyen su diferenciación en alguno de los órganos linfoides primarios para convertirse en linfocitos T o linfocitos B. (Gutiérrez, 2010). Los linfocitos B (células B) representan entre el 5 al 15% de los linfocitos sanguíneos, su constante movimiento por el torrente sanguíneo hace que siempre estén disponibles para la defensa del organismo, proliferan ante estímulos y se convierten en células plasmáticas iniciando la producción de inmunoglobulinas, los linfocitos T (células T) son generados en la médula ósea, se localizan en órganos linfoides especializados, circulan en la sangre periférica y migran a los tejidos del cuerpo. Su estimulación antigénica genera la proliferación, puede dirigir y reclutar otras células del sistema inmunitario para atacar directamente a las células enfermas. Las células T contienen receptores capaces de reconocer antígenos y secretar citosinas así generar una respuesta inmune (Lowe & Anderson, 2015).

Los linfocitos asesinos naturales son parte de la inmunidad inespecífica (innata), es un tipo de glóbulo blanco capaz de destruir mediante enzimas células tumorales o infectadas por agentes virales. La presencia de otros tipos celulares como monocitos, macrófagos, neutrófilos, basófilos, eosinófilos, células reticulares y células dendríticas desempeñan funciones

importantes en la presentación de los antígenos y la regulación de las respuestas inmunitarias. Además, una serie de células epiteliales y del estroma especializadas proveen el ambiente para que se produzcan muchas reacciones inmunitarias mediante la secreción de sustancias específicas que regulan el crecimiento, la migración y la activación de las células efectoras y las células de sostén (Pawlina & Ross, 2015).

2.5 Órganos Linfoides

El tejido linfático es un tejido conectivo especializado compuesto por células y matriz extracelular que incluyen distintas poblaciones de linfocitos T y B, así como linfoblastos, plasmocitos, macrófagos, células dendríticas, células reticulares y células sanguíneas, el predominio de linfocitos con un núcleo central y escaso citoplasma otorga a estos órganos una basofilia característica cuando los preparados se realizan con tinción de hematoxilina y eosina, el tejido linfático se clasifica en a) difuso en el cual sus células no se encuentran asociadas formando estructuras particulares y b) folicular o nodular donde los linfocitos se agrupan y forman estructuras circulares (Brusco et al., 2014).

Las células y moléculas responsables de la inmunidad constituyen el sistema inmunitario, y a su respuesta conjunta y coordinada a la presentación de sustancias extrañas se le llama respuesta inmunitaria (Abbas et al., 2015).

2.5.1 Timo

El timo, un órgano de origen endodérmico localizado en el mediastino superior, se divide en dos lóbulos mediante una cápsula de tejido conjuntivo; los linfocitos T se diferencian en células inmunocompetentes en este órgano, comienza a involucionar (degenerar) hacia la pubertad y es infiltrado por células adiposas, cada lóbulo del timo se subdivide en lobulillos incompletos (Gartner & Hiatt, 2011).

El timo tiene gran importancia funcional en neonatos y animales jóvenes en crecimiento; es el primer órgano linfoide primario en formarse, se forma a partir de la tercera bolsa faríngea durante la etapa embrionaria; puede estar presente en animales adultos, pero no es funcional debido a que el órgano sufre involución en la pubertad, además a diferencia de otros órganos del sistema inmune carece de nódulos linfáticos (Junqueira & Carneiro, 2015).

El timo está completamente desarrollado y funcional desde el nacimiento, siendo un órgano grande hasta el tiempo de la pubertad, momento en el cual la capacidad de diferenciación y proliferación de timocitos disminuye y causa por la cual el tejido linfático es reemplazado por tejido adiposo (involución) (Pawlina & Ross, 2015).

También se ha observado que el color del timo en los animales jóvenes es rosa pálido y es gris-amarillo en los corderos de más edad, la coloración del timo de los corderos del primer mes de edad varía del rosa débil al amarillo grisáceo (Rahmoun et al., 2020).

2.5.1.1 Función del timo

La función principal es la maduración y selección de linfocitos T que tengan la capacidad de distinguir lo propio de lo extraño y de producir apoptosis en linfocitos defectuosos, además segregan hormonas y otras sustancias que ayudan a regular la proliferación y maduración de los linfocitos de dentro del timo y en otros órganos linfoides, dentro del timo los clones de células T son producidas mediante división celular en la parte externa de la corteza según van acercándose hacia la médula, en la médula las células T entran los vasos sanguíneos y linfáticos que se unen a la reserva de células T circulantes, para posteriormente poblar otros órganos linfoides (Lowe & Anderson, 2015).

La función central del timo es la diferenciación de los linfocitos procedentes de las médulas óseas en linfocitos T (células T) maduras (ingenuos). En este proceso, las células T adquieren la capacidad de distinguir entre lo "propio" y lo "no propio", adquieren inmunocompetencia,

desarrollando la capacidad de iniciar una respuesta inmunitaria al entrar en contacto con un antígeno presentado adecuadamente (Liebich, 2019).

2.5.1.2 Localización del timo

El timo es un órgano, largo, de grosor irregular, y se proyecta desde el arco mandibular hasta el arco aórtico, y llegando a ocupar el área cervical ventrolateral y el mediastino craneal. Se encuentra formado por lóbulos. Estos lóbulos son: timo cervical craneal derecho, timo cervical craneal izquierdo, timo cervical caudal, timo intermedio, y timo torácico. (Melgarejo, 2018).

2.5.1.3 Organización histológica del timo

Cápsula

Ambos lóbulos tímicos están rodeados completamente por una cápsula de tejido conectivo desde la cual se extienden varios tabiques hacia el interior del órgano y dividen cada uno de los lóbulos en numerosos lobulillos incompletos, estos lobulillos presentan una apariencia poliédrica (Brüel et al., 2015).

La cápsula y los tabiques contienen vasos sanguíneos, vasos linfáticos eferentes y nervios, además, fibras de colágeno y los fibroblastos, el tejido conjuntivo del timo contiene una cantidad variable de células plasmáticas, granulocitos, linfocitos, mastocitos, células adiposas y macrófagos (Pawlina & Ross, 2015).

Corteza y Médula

La corteza y médula están entretrejidas por un estroma laxo compuesto por células reticuloepiteliales la porción externa del parénquima, corteza tímica, es muy basófila en los cortes teñidos con hematoxilina y eosina debido a que los linfocitos T en desarrollo están muy juntos con sus núcleos teñidos con intensidad (Pawlina & Ross, 2015).

La corteza y la médula tienen los mismos tipos celulares lo que diferencia a una de otra es la proporción de células, habiendo mayor cantidad en la corteza respecto a la médula, las células más abundantes del timo son los linfocitos T en diversos estadios de maduración y las células reticuloepiteliales, además de estos tipos celulares el timo contiene macrófagos mayormente en la región cortical, las células reticuloepiteliales del timo no producen fibras reticulares de tal manera que el retículo presente en el timo y en cuyas mallas proliferan y se diferencian los linfocitos T está formado por prolongaciones celulares unidas entre sí por desmosomas (Junqueira & Carneiro, 2015).

En la médula hay cuerpos epiteliales estratificados formados por células reticuloepiteliales con capas concéntricas, cuyo citoplasma contiene grandes vacuolas y haces de fibrillas, también se observó que la sustancia medular tiene un color más claro debido al predominio de la base epitelioreticular y menor cantidad de linfocitos. Las formaciones características de la zona medular se encuentran en agrupaciones epiteliales concéntricas formando los corpúsculos de Hassall que no están presentes en la corteza (Rahmoun et al., 2020).

Existen seis tipos de células epiteliales reticulares, tres de los cuales se localizan en la corteza y otros tantos lo hacen en la médula:

Las **células de tipo I** aíslan la corteza de la cápsula de tejido conjuntivo y las trabéculas, y envuelven los vasos sanguíneos corticales.

Las **células de tipo II** se hallan en la zona media de la corteza y rodean islotes de timocitos; presentan antígenos propios y moléculas MHC I y II a los timocitos.

Las **células de tipo III** se localizan en la zona de unión corticomedular, presentan antígenos propios y moléculas MHC I y II a los timocitos.

Las **células de tipo IV** se encuentran en la zona de unión corticomedular de la médula; colaboran con las de tipo III en la separación de la corteza y la médula.

Las **células de tipo V** construyen el marco estructural de la medula.

Las **células de tipo VI** forman corpúsculos tímicos (de Hassall), sintetizan linfopoyetina estromal tímica que favorece la depleción clonal, y colaboran en la inducción de la apoptosis en linfocitos T positivos sencillos (Pawlina & Ross, 2015).

2.5.2 Bazo

En perros, gatos, cerdos, y ratas, el bazo representa al órgano linfoide más grande. Es alargado, plano, delgado y curvo por los bordes, los tamaños en perros, gatos y cerdos varían (Rebellato, (2018); Evans et al., (2020)). El peso y tamaño es influenciado por estrés, distensión estomacal o uso de fármacos (Evans et al., 2020).

2.5.2.1 Función del bazo

El bazo presenta diferentes funciones una de ellas es activar linfocitos para convertirlos en células inmunológicamente activas y estas ser usadas para la defensa del organismo; también se encarga de la destrucción de glóbulos rojos, acción conocida como hemocatéresis, así permite el reciclaje de los elementos contenidos en la hemoglobina, en situaciones depresivas, toma un rol importante en la cantidad de sangre circulante, logrando un mayor volumen en la sangre circulante gracias a las contracciones de la musculatura lisa, y en algunas condiciones patológicas puede encargarse de la producción de eritrocitos. Por lo cual, podemos resumir que son tres las funciones en que se encuentra involucrado el bazo, las cuales son: 1) Producción de células de la sangre; 2) Defensa del organismo y 3) Hemocatéresis (Hall & Guyton, 2016).

Las funciones del bazo en el sistema inmunitario son la presentación de antígenos por las células presentadoras de antígenos (sobre todo células dendríticas y macrófagos) e iniciación de la respuesta inmunitaria, la activación y la proliferación de linfocitos T, la diferenciación de linfocitos B y células plasmáticas así como la secreción de anticuerpos, se producen en la pulpa blanca del bazo; en este sentido, la pulpa blanca es el equivalente de otros órganos linfáticos; además de la captación y destrucción de eritrocitos y plaquetas envejecidos, dañados y anómalos; recuperación del hierro de la hemoglobina de los eritrocitos (Pawlina & Ross, 2015).

Existen diferentes tipos de bazo, según la especie, resultando clasificaciones como el bazo de almacenamiento, bazo defensivo, bazo intermedio, el autor relaciona cada especie con un tipo de bazo donde predomina una función sobre la otra. Es así como, el bazo los humanos, ratones, ratas y conejos pertenecen al bazo defensivo, el bazo de perros es de tipo de almacenamiento debido a que presenta una cápsula y trabéculas musculares capaces de distenderse para almacenar sangre y contraerse para bombearla, los rumiantes y mini cerdos poseen el bazo de tipo intermedio (Haley, 2017). Además, Cotrina, (2017) indica que en los gatos los elipsoides son de mayor tamaño, pero su localización se limita a la zona alrededor de los linfonodos.

2.5.2.2 Localización del bazo

Está situado, en la región dorso-medio lateral izquierdo de la cavidad abdominal, se encuentra sobre la bolsa del rumen, posee forma alargada, aplanada e irregularmente triangular; la superficie parietal es convexa y está relacionada con la pared abdominal y la superficie visceral cóncava, relacionada a la cara parietal del rumen. El borde craneal es delgado, mientras que el borde caudal es engrosado y relacionado al polo craneal del riñón izquierdo (Arias et al., 2011).

2.5.2.3 Organización histológica del bazo

Cápsula

En los seres humanos el bazo está cubierto por una capa de tejido conectivo fibroso por lo cual puede romperse con facilidad partir de la cápsula fibrosa salen tabiques hacia el interior del órgano formando trabéculas (Sepulveda, 2012).

El bazo de camello está compuesto por una cápsula gruesa dividida en una capa externa e interna, la capa externa del bazo en camellos contiene abundante tejido conectivo y poca cantidad de músculo, los límites entre la capa interna y externa están claramente demarcados,

mientras que la capa interna contiene abundante cantidad de músculos liso sujetado por tejido conectivo, La extensión de la cápsula hacia el parénquima esplénico son las trabéculas que se ramifican en el parénquima esplénico que a su vez pueden ser son vasculares o avasculares, las trabéculas como la capa interna de la cápsula están compuestas principalmente de músculo liso (Maina et al., 2014).

Pulpa blanca, Zona marginal y Pulpa roja

El bazo se compone de pulpa blanca, zona marginal y pulpa roja, la pulpa blanca corresponde a la vaina de linfocitos conocida como vaina linfática peri arterial (VLPA), que rodea la arteria central, por lo general alberga un nódulo linfático formado por linfocito B de tal modo que los linfocitos T, se ubican alrededor de una acumulación esférica de linfocitos B; la zona marginal representa el área de separación entre la pulpa blanca y la pulpa roja, en esta región aparecen células dendríticas interdigitantes, macrófagos, células plasmáticas y linfocitos T y B, finalmente la pulpa roja se conforma de espacios vasculares que aparecen rodeados del estroma de la pulpa roja, los codones esplénicos conformados por fibras reticulares rodeadas de una capa de células reticulares estrelladas que evitan el contacto entre las fibras de colágeno y la sangre evitando de tal modo la coagulación (Gartner & Hiatt, 2011).

Es preciso insistir en el hecho de que no se encuentran diferencias estructurales importantes entre la pulpa roja y la pulpa blanca, debido a que no hay límites precisos entre ambos. Las dos están constituidas por elementos linfoides (células linfoides más tejido reticular), pero en la pulpa blanca se trata de tejido linfoide típico que está organizado alrededor de las arterias, mientras la pulpa roja se trata de tejido linfoide atípico distribuido entre los capilares sinusoidales (Cotrina, 2017).

2.5.3 Linfonodos

2.5.3.1 Función del linfonodo

Los linfonodos son pequeños órganos que se encuentran en grupos o cadenas poseen dos funciones principales; las células fagocíticas actúan como filtros inespecíficos para materia particulada como son los microorganismos y el carbón evitando que lleguen a la circulación general, además ofrecen un mecanismo por el que los linfocitos pueden actuar con nuevos antígenos y con las células presentadoras de antígenos en una interface que se encuentra entre la linfa y la sangre iniciando con el reconocimiento de un antígeno por unos pocos linfocitos, los linfonodos facilitan la proliferación de células activadas y en consecuencia amplían la respuesta inmunitaria al formar clones de linfocitos (Lowe & Anderson, 2015).

2.5.3.2 Localización del linfonodo

Los linfonodos se encuentran distribuidos en todo el cuerpo, dentro del trayecto de los vasos linfáticos, se encuentran en la ingle, a lo largo de grandes vasos sanguíneos del cuello, y en gran cantidad a nivel del tórax y el abdomen en especial en el mesenterio (Junqueira & Carneiro, 2015).

2.5.3.3 Organización histológica del linfonodo

Cápsula

Los ganglios linfáticos poseen una superficie convexa y otra cóncava (hilio) envueltas por una cápsula conjuntiva que suele rodearse de tejido adiposo, la cápsula de la superficie convexa proyecta trabéculas hacia la corteza que la subdividen en compartimentos incompletos; conforme se extienden hacia la paracorteza y la medula, las trabéculas se tornan más tortuosas y menos definidas (Gartner & Hiatt, 2011).

El grosor de la cápsula es delgado en edades jóvenes y aumenta con edad, la cápsula está compuesta principalmente de colágeno y fibras reticulares desde la cápsula se extienden

tabiques hacia el interior de los linfonodos las cuales son delgadas en edades tempranas y se vuelven prominentes en la vejez, bajo (Zidan et al., 2012).

Los senos linfáticos subcapsulares se extendían bajo la cápsula y se encuentran conectados a los senos linfáticos trabeculares que rodeaban las trabéculas. Ambos senos se encuentran sostenidos por una red de fibras reticulares. Finas trabéculas de fibra reticular se extendían por el lumen de estos senos. Cada seno estaba revestido por células endoteliales que descansaban sobre una membrana basal. Los linfocitos eran las células principales en el lumen de los senos, con un número menor de macrófagos (Zidan & Pabst, 2015)

Corteza

La corteza se encuentra en la porción externa del linfonodo excepto a la altura del hilio. Se conforma por una masa densa de tejido linfático (armazón reticular, células dendríticas, células dendríticas foliculares, linfocitos, macrófagos y células plasmáticas). Los linfocitos en la corteza superficial están organizados en nódulos, existen dos tipos de nódulos a) nódulos primarios si están compuestos principalmente por linfocitos pequeños, y b) nódulos secundarios si poseen un centro germinativo (Pawlina & Ross, 2015).

La corteza está formada por folículos linfoides primarios, secundarios y tejido interfolicular; los folículos linfoides se encuentran sostenidos por una red de fibras reticulares. Estas fibras reticulares se observaban raramente en los centros germinales, el tejido interfolicular está formado principalmente por linfocitos difusos (Zidan & Pabst, 2015).

Paracorteza

Conocida también como región cortical profunda, se caracteriza por la ausencia de nódulos linfáticos y el predominio de linfocitos T junto a células reticulares, algunos plasmocitos y macrófagos, cabe mencionar que esta región no tiene un límite definido (Junqueira & Carneiro, 2015).

Las células de las vénulas de endotelio alto desempeñan una función importante en la circulación y concentración de la linfa debido a que transportan directamente hacia el torrente sanguíneo alrededor del 35% del líquido y electrolitos que entran a través de los vasos linfáticos aferentes, también poseen receptores para linfocitos estimulados por antígenos. Tanto los linfocitos B como los linfocitos T abandonan el torrente sanguíneo a través de las vénulas de endotelio alto por diapédesis (Pawlina & Ross, 2015).

La población de células de la paracorteza consta de linfocitos y células accesorias que constantemente están entrando y saliendo de esta región, los linfocitos T predominan en la paracorteza, ingresan al ganglio desde la sangre a través del epitelio alto (Lowe & Anderson, 2015).

Médula

La médula comprende los cordones medulares formados principalmente por linfocitos B, pero también pueden contener fibras, células reticulares y macrófagos, además se pueden observar numerosa cantidad de plasmocitos, entre los cordones medulares se encuentran los senos medulares que desde el punto de vista histológico son similares a los demás senos, estos reciben la linfa que viene de la corteza y se comunican con los vasos linfáticos eferentes por los cuales salen del ganglio linfático (Junqueira & Carneiro, 2015).

La médula contiene sinusoides medulares, trabéculas y cordones medulares, unas estructuras formadas por fibras reticulares, células reticulares y macrófagos, así como linfocitos B y células plasmáticas formadas en los folículos linfáticos secundarios (Gartner & Hiatt, 2011).

2.5.4 Tonsilas

Las tonsilas son órganos que se componen de cúmulos de tejido linfático encapsulado en forma incompleta, que se hallan debajo del epitelio de las porciones iniciales del tubo

digestivo, según su localización se distinguen las tonsilas palatinas, tonsilas faríngeas, y tonsilas linguales (Junqueira & Carneiro, 2015).

2.5.4.1 Función de las tonsilas

La función de las tonsilas como cualquier tejido linfoide es especializado en captar antígenos que ingresan en el organismo de los animales a través de la vía respiratoria y digestiva, así favorecer la respuesta inmune para eliminar los agentes patógenos (Liebler-Tenorio & Pabst, 2006).

2.5.4.2 Ubicación de las tonsilas

Según su ubicación se denominan tonsilas palatinas, tonsilas del paladar blando, tonsilas faríngeas, tonsilas linguales, tonsilas paraepiglóticas o tonsilas tubáricas (de Eustaquio), estructuralmente, tienen una superficie lisa, como la tonsila palatina de los carnívoros, otras tonsilas presentan fosas profundas en su superficie (fóssula tonsillaris) entre ellas se encuentran las tonsilas linguales del caballo y del cerdo y las tonsilas tubáricas del cerdo; las invaginaciones de la tonsila palatina de los rumiantes son de naturaleza compuesta (Liebich, 2019).

2.5.4.3 Organización histológica de las tonsilas

Las amígdalas están cubiertas por una gruesa capa de epitelio escamoso estratificado no queratinizado, que se invagina hacia el interior de la amígdala formando una cripta, el epitelio en las criptas pasa a ser más fino e infiltrado por linfocitos que forman un epitelio reticular, además el epitelio que lo cubre posee 4 capas a saber, de abajo arriba; capa basal, capa espinosa, capa intermedia y capa Superficial; El grosor del epitelio reticular no es uniforme, pudiendo estar formado de varias capas en algunas zonas y de una sola capa en otras. Las fibras de colágeno de la lámina propia están dispuestas en una hemicápsula que separa el

tejido linfóide de la amígdala de las estructuras faríngeas circundantes (Al-Ramadán & Alluwaimi, 2018).

Los nódulos linfoides pueden ser primarios o secundarios, los secundarios tienen un centro germinal claro; el área interfolicular tiene muchas vénulas endoteliales altas y capilares sanguíneos. Las vénulas endoteliales se encuentran revestidas por epitelio cúbico simple donde también se pueden observar linfocitos. Los capilares sanguíneos poseen glóbulos rojos y neutrófilos (Ez-Elarab et al., , 2022).

2.5.5 Placas de Peyer

Las placas de Peyer, consisten en múltiples acumulaciones de nódulos linfáticos que contienen linfocitos T y B, además, a lo largo de los intestinos grueso y delgado se localizan muchos nódulos linfáticos individuales (solitarios) que están aislados (Pawlina & Ross, 2015).

2.5.5.1 Función de las placas de Peyer

El segmento gastrointestinal de los animales está continuamente expuesto a noxas, y gran parte de este sistema está poblado de microorganismos patógenos que significan un riesgo para la salud de los animales. Por lo tanto, estos cúmulos de linfocitos se caracterizan por su vigilancia inmunológica y favorece la respuesta del sistema inmune dentro de la mucosa. Además, las placas de Peyer pueden aprender a identificar nuevos antígenos para el almacenamiento de esta información para el futuro para que el sistema inmunitario sea más eficaz (Gutiérrez, 2010).

En el epitelio intestinal existen células especializadas denominadas células M, dichas células llevan como función captar y transportar antígenos (que son macromoléculas) desde el lumen intestinal hacia los tejidos ubicados debajo del epitelio con el objetivo de iniciar la respuesta inmunitaria específica en las placas de Peyer (Fortoul & Castell, 2017).

2.5.5.2 Ubicación de las placas de Peyer

La observación anatómica de las placas de Peyer muestra que están distribuidas en los tres segmentos del intestino delgado de la alpaca, presentando la mayor cantidad en el yeyuno, seguido de duodeno e íleon, sin embargo, existe una mayor densidad en íleon con respecto a yeyuno y duodeno. Por otro lado, no se observó diferencias significativas entre sexos, además, considerando el plano transversal del órgano, se observó una mayor presentación en el borde anti-mesentérico, seguido del borde lateral y del borde mesentérico (Flores et al., , 2020).

2.5.5.3 Organización histológica de las placas de Peyer

Hacia la región luminal está revestida por un epitelio simple cúbico dentro de los cuales se pueden encontrar células captadoras y transportadoras de antígenos denominadas células M, las áreas foliculares e interfoliculares están formadas folículos linfoides con un centro germinal que tiene linfocitos B en proliferación, células dendríticas foliculares y macrófagos. La morfología de las células M varía mucho entre diferentes especies animales, y dentro de los sitios anatómicos de una especie. Por ejemplo, la estructura de micropliegues está presente solo en las células M humanas (Brusco et al., 2014).

Cabe aclarar que las células M no son células presentadoras de antígeno, tienen la capacidad de transportar inmunoglobulina A producida por las células plasmáticas hacia la luz intestinal, que adherida en el glucocalix impide el contacto de bacterias y neutraliza virus y toxinas. Los folículos linfoides presentan linfocitos B, mientras que las áreas interfoliculares y la cúpula, constituidas por tejido linfoide difuso, presentan linfocitos T (Bernabé et al., 2012). Las placas de Peyer tienen una superficie lisa y se caracterizan por folículos linfoides primarios y secundarios densamente agregados dando lugar a una elevación en forma de placa del epitelio suprayacente, posee células especializadas interpuestas entre las células epiteliales denominadas células M (Liebich, 2019).

2.6 Métodos de estudio histológico

También llamada anatomía microscópica, se encarga del estudio de las estructuras microscópicas de los tejidos y órganos del cuerpo. La histología moderna no es sólo una ciencia descriptiva, sino que también incluye muchos aspectos de la biología molecular y celular, que facilitan a describir la organización y función celular; las técnicas utilizadas por los histólogos son diversas en extremo (Pawlina & Ross, 2015).

2.6.1 Tinción hematoxilina eosina

Es una tinción de uso común en histología y citología; esta es una tinción fundamentada en dos pasos, el primero es la tinción nuclear con una tinción básica (hematoxilina) y el segundo es una tinción citoplasmática con una tinción ácida de xanteno (eosina). La hematoxilina, cuando se combina con sales de aluminio, hierro o cromo, forma hemateína, un pigmento activo formado por oxidación de la hematoxilina. Esto se usa como colorante para teñir núcleos de azul/negro. Por esta razón, se usa comúnmente en combinación con una tinción citoplásmica (generalmente eosina). La eosina proporciona una coloración que va del rosa al rojo (estructura y matriz celular). De esta forma se consigue un buen contraste de las muestras microscópicas, facilitando la observación (Pawlina & Ross, 2015).

2.6.2 Técnicas histoquímicas

Se denomina así a las técnicas utilizadas en histología pueden ayudar a identificar de manera específica tejidos confiriéndoles a estas diferentes coloraciones basados en su afinidad entre el colorante y el tejido (Brusco et al., 2014).

2.6.2.1 Tinción tricrómica

La técnica tricrómica de Masson emplea hematoxilina de Meyer, fucsina Ponceau y azul de anilina para poner en manifiesto la arquitectura general, y resaltar las fibras de sostén o diferenciar el tejido conectivo, en el que el núcleo aparece negro, músculo, el citoplasma y

la queratina aparecen rojos, y el colágeno aparece azul o verde dependiendo del contraste (Fortoul & Castell, 2017).

2.6.3 Impregnación argéntica

Las técnicas de impregnación de plata utilizan sales de plata, en estas técnicas, dichas sales se reducen y precipitan en las células del tejido; por lo general estas técnicas son utilizadas para el estudio del sistema nervioso, pero existen variaciones que permiten teñir las fibras reticulares del tejido conectivo e incluso las mitocondrias (Brusco et al., 2014).

2.6.3.1 Tinción de reticulina

Esta tinción viene a ser una técnica argéntica, pues determinados elementos biológicos reducen el nitrato de plata, el cual se impregna como depósitos negros de plata metálica en los elementos donde se produce la reducción química, para ello se requiere la ayuda de agentes reductores. Si se modifican las condiciones de la solución de nitrato de plata que se utilice, es factible emplearla para manifestar una amplia variedad de estructuras como membranas basales, fibras reticulares y melanina (Fortoul & Castell, 2017).

III CAPITULO

3.1 Materiales y métodos

3.1.1 Ubicación del experimento

La investigación se desarrolló en el Laboratorio de Histología y Patología de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria (Sicuani) de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, ubicado en el distrito de Sicuani, provincia de Canchis, departamento de Cusco, con las siguientes coordenadas:

Latitud sur: 14° 16' 17"

Longitud oeste: 71° 13' 45"

Altitud: 3 546 m.s.n.m.

Precipitación media anual: 651 mm

3.1.2 Descripción de los métodos

La metodología consistió en la descripción histológica de los órganos y estructuras linfoides de llamas, para lo cual se hizo uso de muestras de los órganos linfoides de 10 llamas entre machos y hembras menores de 2 años aparentemente sanas. Las muestras fueron sometidas al procesamiento de la técnica de inclusión en parafina descrita por (Brusco et al., 2014), así mismo se utilizaron las técnicas de tinción: hematoxilina eosina, tinción de reticulina, y tinción de Masson, para obtener láminas histológicas que posteriormente fueron interpretadas.

3.1.3 Materiales

Materiales de campo

- ✓ Mandil
- ✓ Botas
- ✓ Guantes
- ✓ Hoja de bisturí
- ✓ Tijeras
- ✓ Equipo de disección
- ✓ Cajas para transportas las muestras
- ✓ Etiquetas para rotular las muestras

Insumos y equipos de laboratorio

- ✓ Laptop
- ✓ Impresora
- ✓ USB
- ✓ Libros, atlas de histología
- ✓ Journal de histología veterinaria
- ✓ Útiles de escritorio

Materiales de laboratorio

- ✓ Frascos estériles para las muestras de órganos linfoides de la llama.
- ✓ Formol tamponado al 10%.
- ✓ Xilol.
- ✓ Parafina histológica.
- ✓ Hematoxilina de Harris.
- ✓ Eosina.

- ✓ Bálsamo de Canadá.
- ✓ Laminas porta objetos.
- ✓ Laminas cubreobjetos.
- ✓ Baterías de tinción para Hematoxilina y Eosina.
- ✓ Baterías de colorantes especiales.
- ✓ Baterías de alcoholes para deshidratación e hidratación.
- ✓ Equipo de inclusión de parafina.
- ✓ Lámina de calentamiento y de enfriamiento.
- ✓ Estufa.
- ✓ Flotador de tejido.
- ✓ Pinzas operarias.
- ✓ Reloj.
- ✓ Micrótopo.
- ✓ Microscopio óptico compuesto.

3.1.4 Descripción de las actividades

Preparación de formol tamponado

Para la fijación de los tejidos, se usó el formaldehído debido a su fácil accesibilidad y pocas alteraciones en los componentes celulares. El preparado del formol tamponado se realizó en el laboratorio de histología y patología de la Escuela Profesional Medicina Veterinaria, UNSAAC, utilizando a la siguiente fórmula:

Formaldehído 40%	100 mL
Agua destilada	900 mL
Fosfato de sodio, monobásico	4.0 g

Fosfato de sodio, dibásico (anhidro) 6.5 g

Muestreo

El muestreo se realizó de manera: (a) se recurrieron a los centros de beneficio y se colectaron muestras de timo, bazo, linfonodos, tonsilas y placas de Peyer, de diez llamas entre machos y hembra, menores a dos años de edad, y (b) se realizó eutanasia a cinco llamas machos y cinco llamas hembras menores de dos años clínicamente sanas, para realizar la eutanasia se utilizó pentobarbital sódico a dosis de 60 mg/Kg de peso vivo para posteriormente realizar colecta de muestras, estas fueron rotuladas y se fijaron en formol 10% tamponado y luego fueron guardadas en frascos de vidrio con boca ancha y cierre hermético que fueron posteriormente trasladados hacia el laboratorio de histología y patología para su procesamiento.

Preparación de alcoholes

En las baterías de deshidratación y tinción, se usaron alcoholes de diversas concentraciones para deshidratar o hidratar al tejido. El alcohol 96° fue concentración base para otros alcoholes excepto el alcohol absoluto (100%) por su fácil accesibilidad, para bajar la concentración de los alcoholes se usó la siguiente fórmula.

$$V_1 * C_1 = V_2 * C_2$$

Dónde: V_1 es la cantidad de alcohol que estamos buscando, C_1 es la concentración de solución matriz; V_2 es el volumen final que necesitamos y C_2 es la concentración diluida que queremos preparar.

Se prepararon alcoholes de diferentes grados 70°, 80°, 90°, 95° y el alcohol de 100° se obtuvo de manera comercial.

Fijación del tejido

La fijación es obtenida gracias al uso de sustancias o combinación de sustancias químicas ayudan a conservar de forma permanente la estructura del tejido para ser procesados posteriormente; este paso tiene como objetivo suprimir el metabolismo celular, impedir la degradación enzimática de las células; así como endurecer el tejido debido a la desnaturalización de moléculas proteicas (Pawlina & Ross, 2015).

En mi estudio utilicé formalina tamponada con buffer de fosfato de sodio monobásico y fosfato de sodio dibásico además de agua destilada, las muestras fueron retiradas de los frascos de colección para luego ser sumergidas en un recipiente nuevo con formalina tamponada para su conservación y posterior procesamiento.

Inclusión en parafina

Durante este paso la muestra se embebe en parafina, a temperatura ambiente la parafina posee una consistencia de vela, por ello es necesario calentarla a 60° C, para que llegue a un estado líquido, con este objetivo se colocan los bloques de parafina dentro de un vaso precipitado, la muestra se sumerge en un recipiente, y se deja en una estufa en este proceso la parafina ingresa dentro del tejido, posteriormente, se toma un molde en el que se coloca el bloque de tejido embebido y se llena con parafina líquida, para posteriormente dejar enfriar y solidificar (Brusco et al., 2014).

En este estudio los procesos de lavado y aclaramiento se realizaron con alcoholes de 80°, 95° y 100° para posteriormente realizar un pasaje por xileno (**Fig. 1**). La parafina se mantuvo a una temperatura de 62 °C durante todo el procedimiento de infiltración en dos vasos Beaker dentro de una estufa. Después de conseguir la infiltración, las muestras se colocaron en moldes de parafina a través de un equipo especializado que facilita la inclusión; usando las pinzas calentadas se removió a los tejidos de los cassettes, y posteriormente se colocó en el

fondo del molde adecuado para el espécimen, para finalmente, transferir el molde del equipo de inclusión en parafina hacia la plancha fría hasta que la parafina logre solidificarse (**Fig. 2**).

Figura. 1.

Flujograma del proceso de lavado y aclaramiento de las muestras.

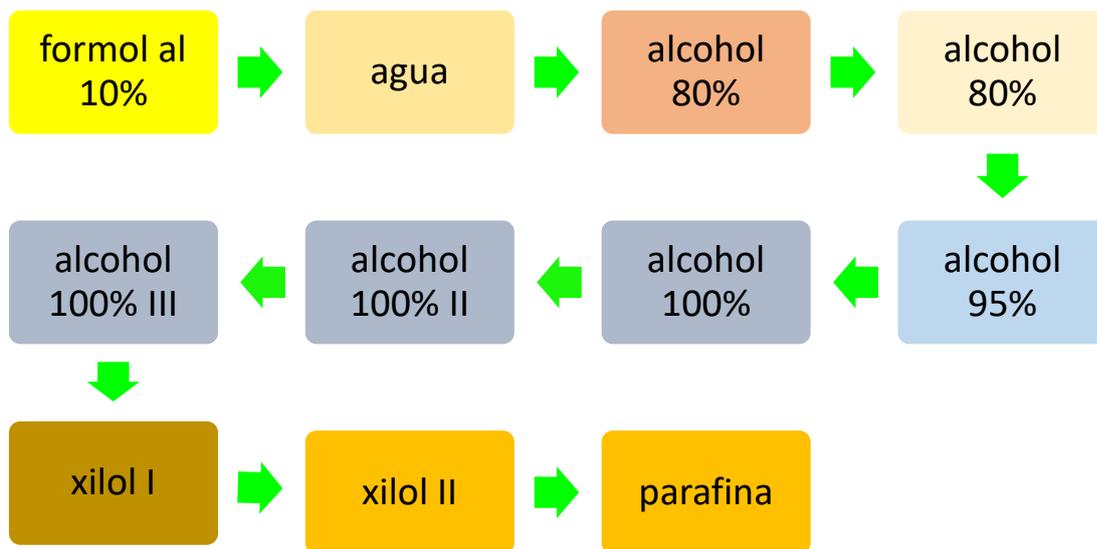
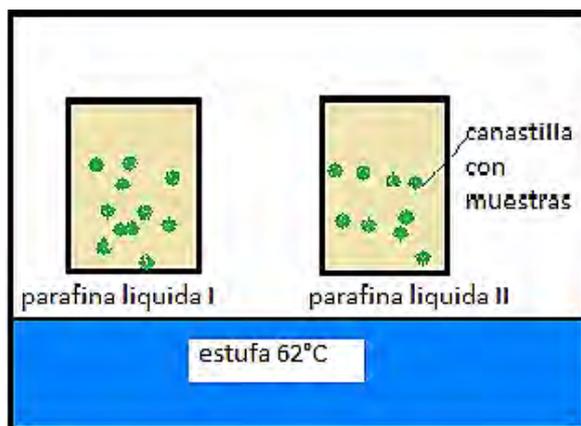
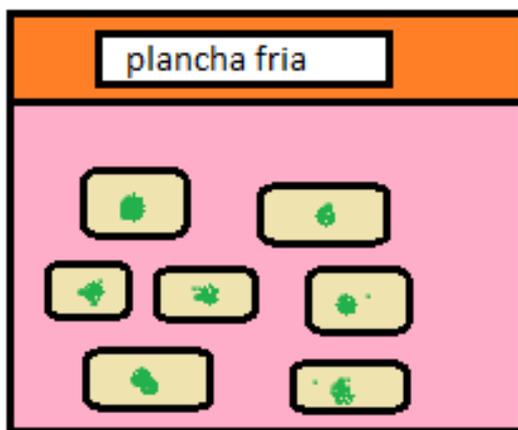
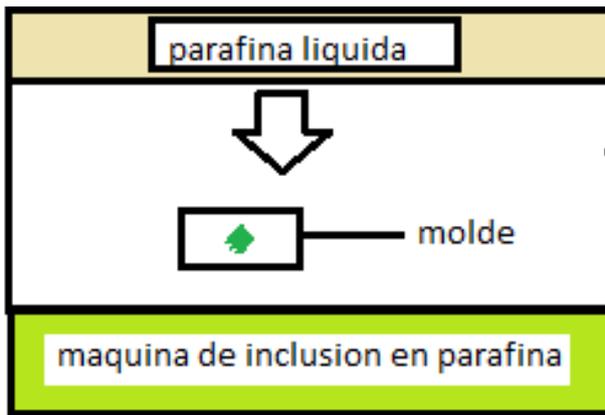


Figura. 2

Flujograma del proceso de inclusión en parafina.





Corte

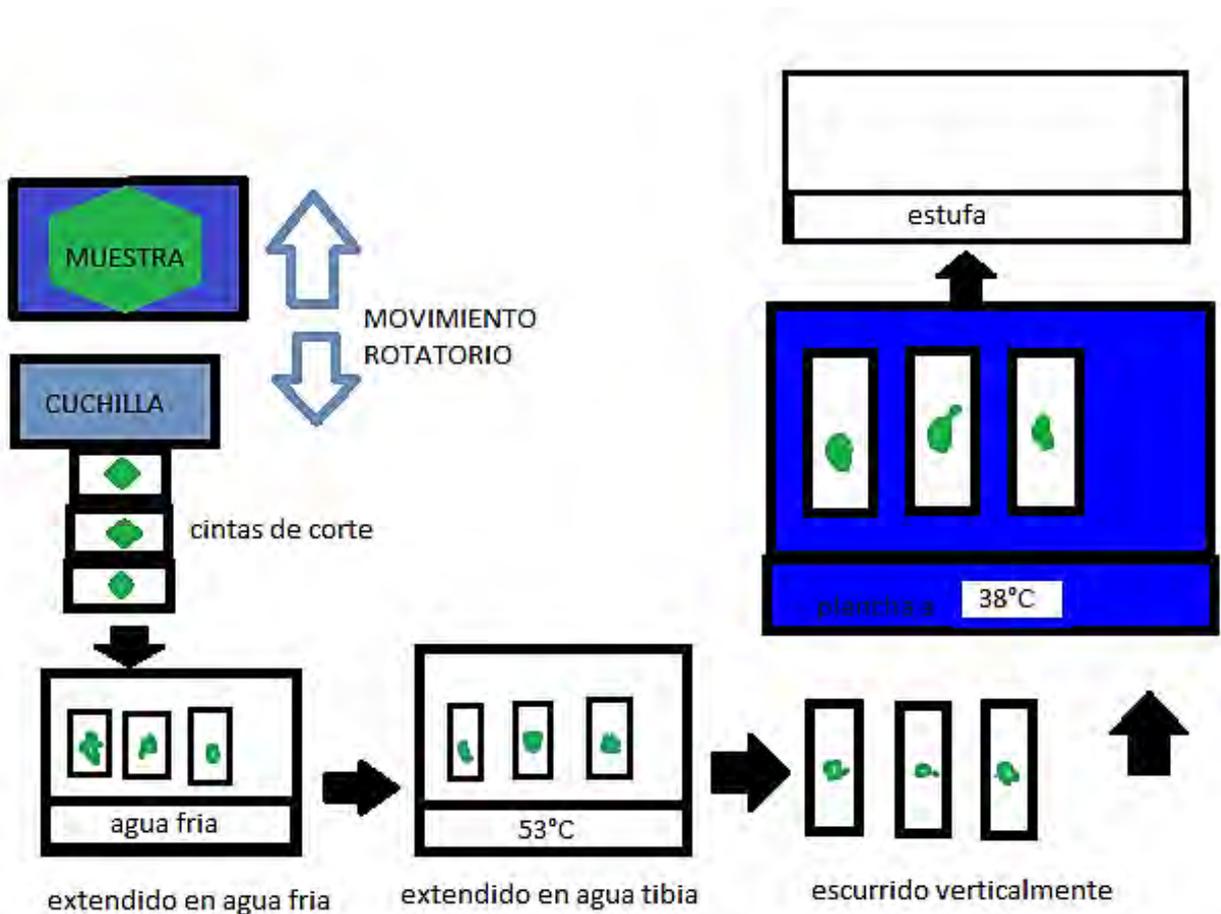
Con la parafina fría y endurecida en un bloque, este se coloca en una máquina cortadora especial (micrótomo), que corta rebanadas finas con una cuchilla, los cortes obtenidos deben ser muy delgados entre 5 y 15 μm estos se colocan sobre una lámina portaobjetos para después ser teñidas (Pawlina & Ross, 2015).

Una vez frío, los moldes se retiraron y se enfriaron nuevamente para facilitar en el corte. Estos se montaron en el micrótomo manual para hacer cortes muy finos; primeros se realizaron cortes gruesos usando el avance macro del micrótomo, el objetivo de realizar cortes gruesos es desgastar la parafina hasta llegar al tejido, y así iniciar con cortes delgados de 5 μm , se obtuvieron cintas cortadas del tejido, para separar cada sección de la cinta, primero se extendió en agua fría se separaron con ayuda de una cuchilla de corte usada y luego recogiendo con la lámina se puso en agua tibia a 53 °C a temperatura constante, este paso nos permite estirar el

tejido contenido en el corte y reducir las arrugas y artefactos por compresión del corte. Finalmente, las secciones cortadas extendidas en agua tibia se retiraron con una lámina portaobjetos limpia, y se escurrieron verticalmente por varios minutos para después colocar en una plancha caliente a una temperatura de 38 °C. Luego se reservaron en grupos en una estufa hasta el día siguiente. (Fig.3)

Figura. 3.

Esquema de corte.

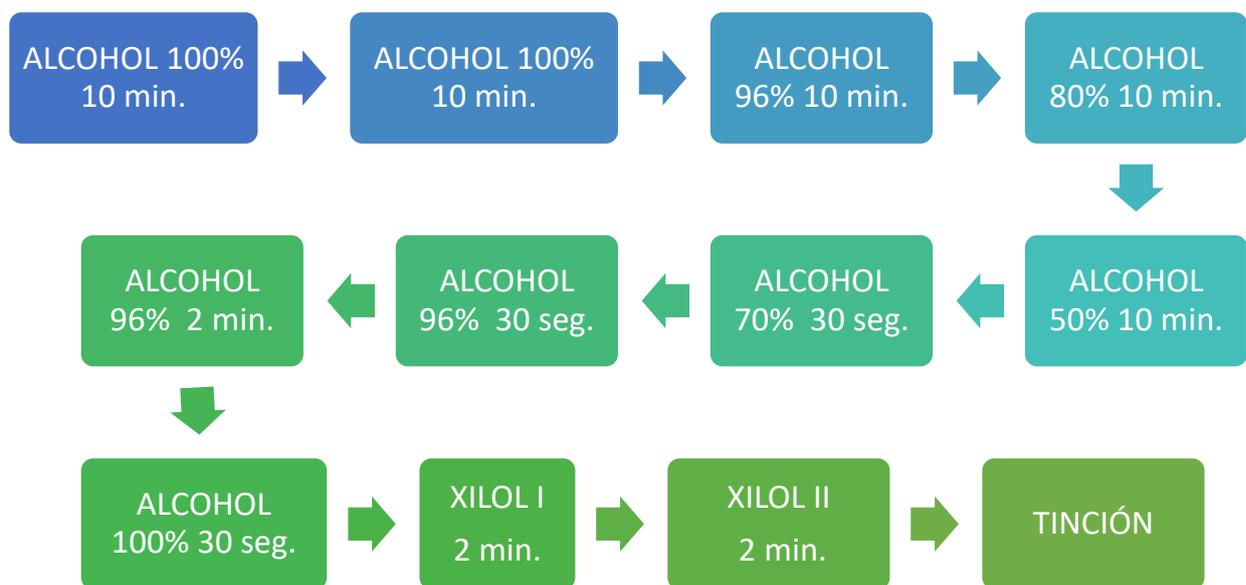


Desparafinación e hidratación de láminas

Para hacer posible la tinción la lámina debe estar desparafinada e hidratada, este proceso consistió en sumergir la lámina en xilol para remover la parafina, luego pasó a una serie de alcoholes en concentraciones decrecientes y, finalmente, se realizó un pasaje en agua destilada, se tiñe y se visualiza (Fig.4).

Figura. 4

Flujograma de deshidratación e hidratación.



Tinción

Los tejidos cortados son montados sobre una lámina portaobjetos para ser teñidos, la mayoría de los colorantes utilizados en histología son soluciones acuosas razón por la cual los cortes de muestras incluidas en parafina deben primero ser desparafinadas mediante un tratamiento de xileno e hidratadas por pasajes de concentraciones decrecientes de alcoholes antes de ser teñidos.

Los protocolos de tinción utilizados para este estudio fueron tinción de hematoxilina eosina, tricrómico de Masson y reticulina (Brusco et al., 2014).

Tinción Hematoxilina y Eosina

Partimos de muestras que han sido fijadas e incluidas en parafina. Estas muestras se han cortado en secciones de unas 5 μm de grosor y adheridas a portaobjetos, para ser teñidas con hematoxilina y eosina (**tabla 1**) y observar la distribución celular.

Tabla 1.

Protocolo de tinción de hematoxilina y eosina.

Xilol	10 minutos
Xilol	10 minutos
Etanol 100 %	10 minutos
Etanol 100 %	10 minutos
Etanol 96 %	10 minutos
Etanol 80 %	10 minutos
Etanol 50 %	10 minutos
Agua destilada	5 minutos
Hematoxilina	5 – 10 minutos
Agua corriente del grifo – diferenciación	15 minutos
Agua destilada	1 minuto
Agua destilada	1 minuto
Eosina al 0.2 % en H₂O	0.5 – 2 minutos
Etanol 70 % para diferenciación	Unos segundos
Etanol 96 %	20 segundos
Etanol 96 %	20 segundos
Etanol 100 %	3 minutos

Etanol 100 %	3 minutos
Etanol 100 %	3 minutos
Xilol	10 minutos
Xilol	10 minutos
Montaje (Bálsamo de Canadá)	

Fuente. (Universidad de Vigo, 2018)

Los resultados de coloración son los siguientes: colágeno: rosa pálido, músculo: rosa fuerte, queratina: rojo intenso, citoplasma: rosado, núcleos: azul oscuro o púrpura (en realidad se tiñe solo la cromatina) y eritrocitos: color cereza.

Tinción Tricromico de Masson.

Se utilizó para evidenciar tejido conectivo, muscular y fibras colágenas. Se realizó de acuerdo a la (tabla 2).

Tabla 2.

Protocolo de tinción Tricrómico de Masson

Portaobjetos con preparado histológico	
Solución de tinción de hematoxilina férrica según Weigert	5 minutos
Agua corriente del grifo	5 minutos
Ácido acético 1 %	30 segundos
Reactivo 1 (solución de azofloxina)	10 minutos
Ácido acético 1 %	30 segundos
Reactivo 2 (Solución de ácido fosfovolfrámicoanaranjado G)	1 minuto

Ácido acético 1 %	30 segundos
Reactivo 3 (Verde luz SF en solución)	2 minutos
Ácido acético 1 %	30 segundos
Etanol 70 %	30 segundos
Etanol 96 %	30 segundos
Etanol 100 %	30 segundos
Etanol 100 %	30 segundos
Etanol 100 %	2 minutos
Xilol	5 minutos
Xilol	5 minutos
Montaje (Bálsamo de Canadá)	

Fuente: (Merck, 2018)

Resultado de coloración: los núcleos celulares son de color pardo oscuro a negro; el citoplasma, musculatura rojo ladrillo; tejido conectivo y sustancias mucosas ácidas se visualizan de color verde y los eritrocitos presentan un color anaranjado luminoso

Tinción reticulina de Gordon Sweet.

Este procedimiento se realizó con el objetivo de evidenciar las fibras reticulares. Siguiendo los pasos de la **tabla 3**.

Tabla 3.

Protocolo de tinción de reticulina de Gordon Sweet.

Xilol	10 minutos
Xilol	10 minutos
Etanol 100 %	5 minutos
Etanol 100 %	5 minutos

Etanol 96 %	5 minutos
Etanol 96 %	5 minutos
Agua corriente del grifo	Lavado
Permanganato potásico al 1%	2 minutos
Agua destilada	5 minutos
Ácido oxálico al 5%	Decolorar
Agua destilada	Lavar
Alumbre férrico amonio al 2%	2 minutos
Agua destilada	5 minutos
Solución de plata amoniaca	3 minutos
Agua destilada	Lavado rápido
Formol 10%	3 minutos
Agua destilada	Lavado
Cloruro de oro al 1/500	10 minutos
Agua destilada	Lavado
Hiposulfito sódico al 5%	1 minuto
Agua destilada	Lavado
Agua corriente del grifo	Lavado
Etanol 96 %	5 minutos
Etanol 96 %	5 minutos
Etanol 100 %	5 minutos
Etanol 100 %	5 minutos
Xilol y montaje (Bálsamo de Canadá)	

Fuente. (Del Campo et al., 2010)

Resultados fibras reticulares color negro.

Montaje

El montaje es el paso final, dentro de la preparación de las láminas histológicas y consiste en la colocación de una laminilla delgada que cubra toda la superficie del tejido (Brusco et al., 2014).

Para ello utilizamos una pinza con la cual se depositó una gota de bálsamo de Canadá en el centro de la muestra para posteriormente cubrirlo con una laminilla adecuada para el tamaño de tejido, una vez cubierto se realizó una presión ligera de esta manera para poder distribuir el bálsamo de Canadá de manera uniforme y que cubra toda la muestra, posteriormente se dejó secar para luego evaluar en el microscopio.

IV CAPITULO

4.1 Resultados y discusión

4.1.1 Análisis histológico del timo

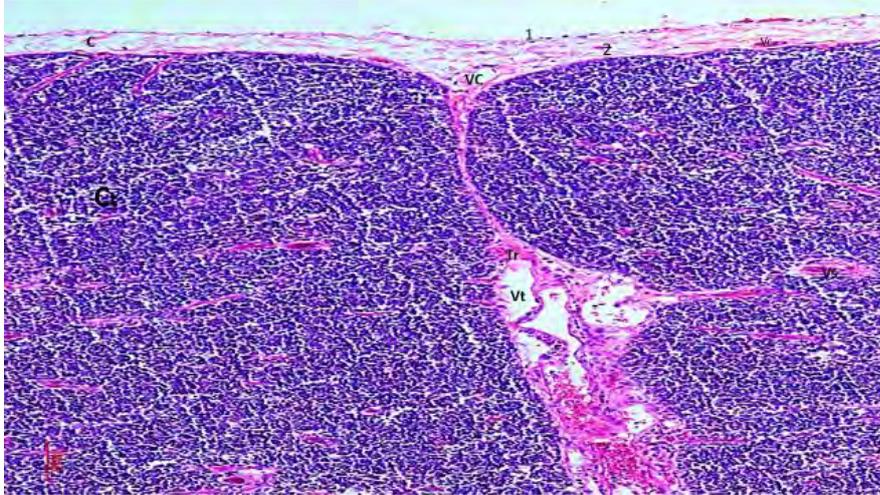
Cápsula

La cápsula del timo es delgada y rodea todo el contorno del órgano, posee tejido conectivo, compuesto por una doble capa de fibroblastos, (**Fig. 5**) dentro de su composición gracias a las técnicas histoquímicas se logran diferenciar fibras colágenas (**Fig.6**), y fibras reticulares (**Fig. 7 y 8**), las cuales forman una malla que es el armazón del tejido, desde la capa interna de la cápsula se proyectan tabiques hacia el interior del órgano separándolo de manera incompleta, y formando así los lobulillos tímicos; tanto por la cápsula como los tabiques discurren vasos sanguíneos, que en este estudio se muestran pletóricos delimitados por células endoteliales, dentro de los vasos sanguíneos se logran observar eritrocitos con forma ovalada característica de las llamas (**Fig. 6.**).

Los hallazgos realizados en nuestro estudio fueron reportados también por Brüel et al., (2015) quienes aseguran que las proyecciones trabeculares de la cápsula otorgan a los lobulillos una apariencia poliédrica, la cual no pudimos apreciar mediante evaluación macroscópica observando una apariencia lobulada. Los tabiques presentes en los timos de llamas presentan tejido conectivo y vasos sanguíneos también descritos por Al Ramadan et al., (2021) en camellos; Khalee et al., (2017) en conejos y Pawlina & Ross, (2015) en humanos. Los septos en las llamas tienen profundidades variables, llegando algunos a estar en contacto con regiones medulares diferente a la de los corderos, donde los septos interlobulillares aíslan solamente la región cortical descrita por Rahmoun et al., (2020).

Figura. 5.

Timo de llama.



Nota. Cápsula(C) conformada por una capa de fibroblastos externa (1) y otra interna (2) por la cual discurre un vaso sanguíneo pletórico (Vc), desde la capa interna se proyectan hacia el parénquima trabéculas (Tr) en la cual se puede observar un vaso sanguíneo trabecular. Hematoxilina y eosina 40X.

Figura. 6.

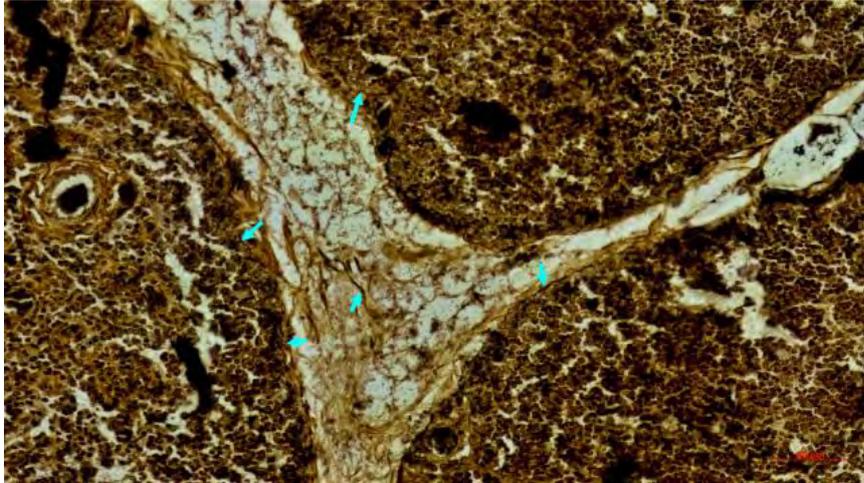
Cápsula del timo.



Nota. Se observa vasos sanguíneos capsulares (Vc) y trabeculares (Vt) delimitados por células endoteliales planas (flechas), capa de fibroblastos interna (Fb) bajo la cual se encuentra la corteza tímica (COR). Tricrómico de Masson 100 X.

Figura. 7.

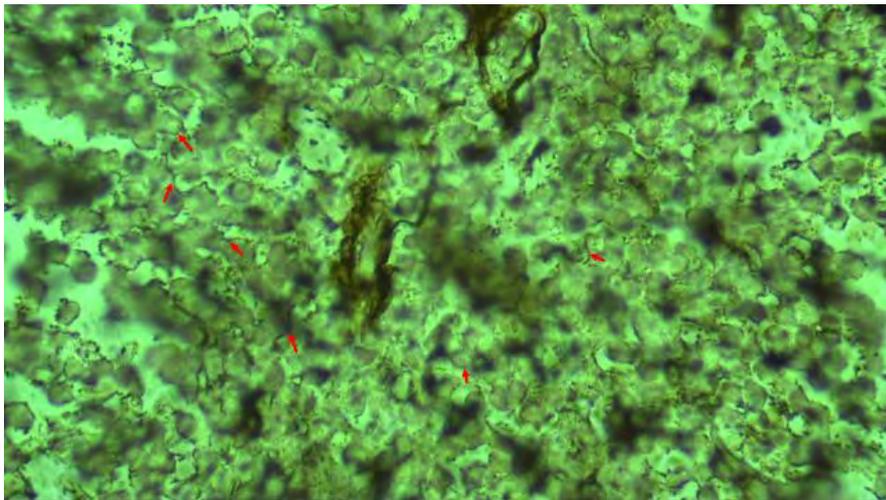
Trabécula del timo de llama.



Nota. Fibras reticulares en cápsula (flechas). Reticulina 1000X.

Figura. 8.

Parénquima del timo de llama.



Nota. Presencia de fibras reticulares (flechas). Reticulina 1000X

Corteza

La corteza tímica se encuentra inmediatamente debajo de la capa interna de la cápsula y las trabéculas; se pueden diferenciar células reticuloepiteliales que delimitan la cápsula (**Fig. 9**).

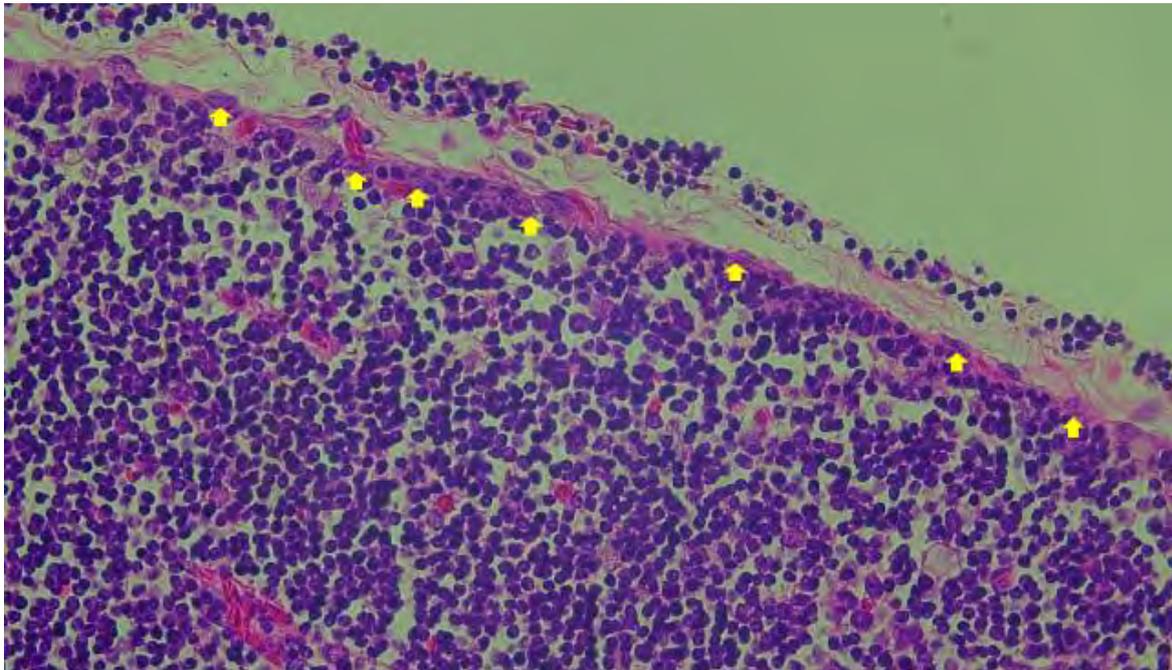
La zona de la corteza del parénquima se reconoce por la abundante cantidad de linfocitos pequeños presentes que se sitúan sobre el citoplasma de células reticulares epiteliales (**Fig.10**)

estas últimas en menor proporción haciendo difícil su diferenciación, además de lo anterior se pueden observar vasos sanguíneos de endotelio plano con una membrana basal evidente que es abrazada por células reticulares epiteliales (**Fig. 11**), hacia la unión cortico medular se pueden observar células reticuloepiteliales unidas entre sí delimitando de esa manera la corteza de la médula (**Fig. 12**).

Nuestros resultados fueron similares al trabajo de Rahmoun et al., (2020) quienes mencionaron que la corteza forma la parte periférica de los lóbulos del timo, conformado por una agrupación de células reticuloepiteliales, linfocitos en distintos estadios y vasos sanguíneos rodeados por células reticuloepiteliales; así, la corteza tímica está delimitada de la cápsula por una cadena células reticuloepiteliales presentes también en la corteza y alrededor de los vasos sanguíneos; de acuerdo a la clasificación realizada por Pawlina & Ross, (2015) las células reticuloepiteliales localizadas entre la cápsula y la corteza y las ubicadas alrededor de los vasos sanguíneos pertenecen a células reticuloepiteliales tipo I y las presentes dentro de la corteza pertenecen a tipo de células retículo epiteliales tipo II las cuales presentan antígenos a los timocitos. De acuerdo con Junqueira & Carneiro, (2015) las células reticuloepiteliales se encuentran unidas por desmosomas, una de las características de estas células reticuloepiteliales es que no producen fibras reticulares, por tanto; el marco reticular sobre el cual descansan los linfocitos está compuesto por prolongaciones citoplasmáticas de las células reticuloepiteliales. La presencia de células reticuloepiteliales alrededor de los vasos sanguíneos también fue descrita por Pawlina & Ross, (2015) quienes afirman que la presencia de estas células constituye un elemento fundamental de la barrera hematotímica.

Figura. 9.

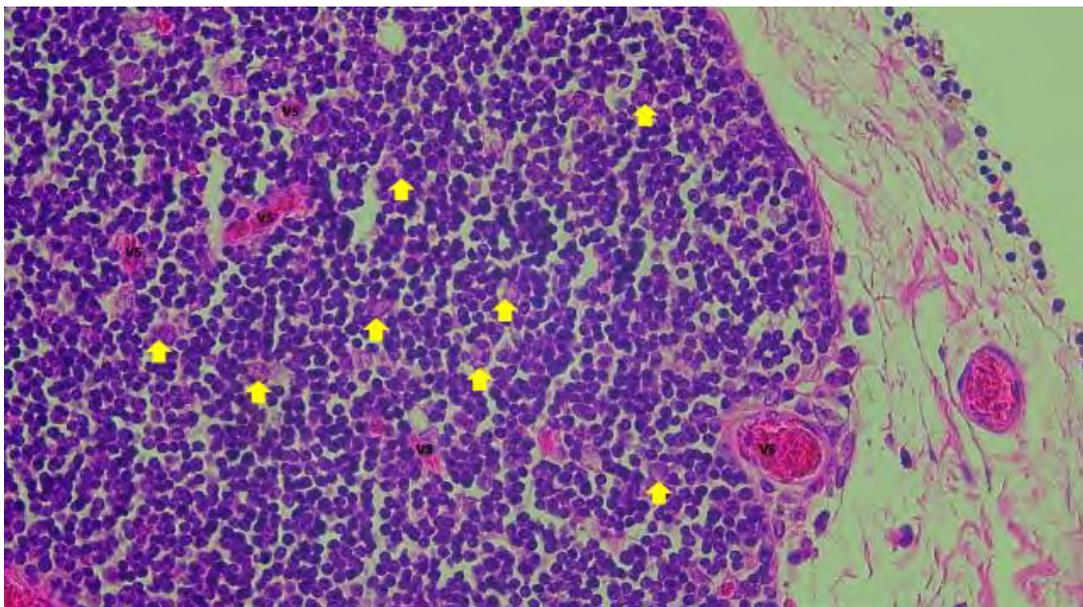
Cápsula y corteza del timo.



Nota. Células retículoepiteliales (flechas amarillas), que marcan el límite entre la cápsula y la corteza. Hematoxilina y eosina. 400X.

Figura. 10.

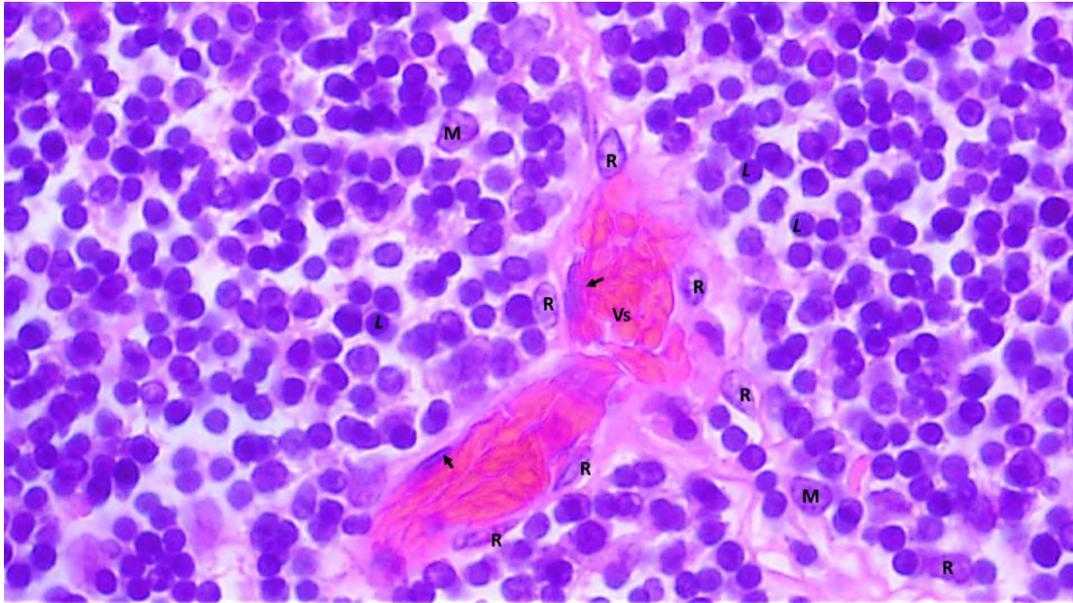
Corteza del timo.



Nota. Células reticuloepiteliales (flechas amarillas), vasos sanguíneos (VS). Hematoxilina y eosina. 400X.

Figura. 11.

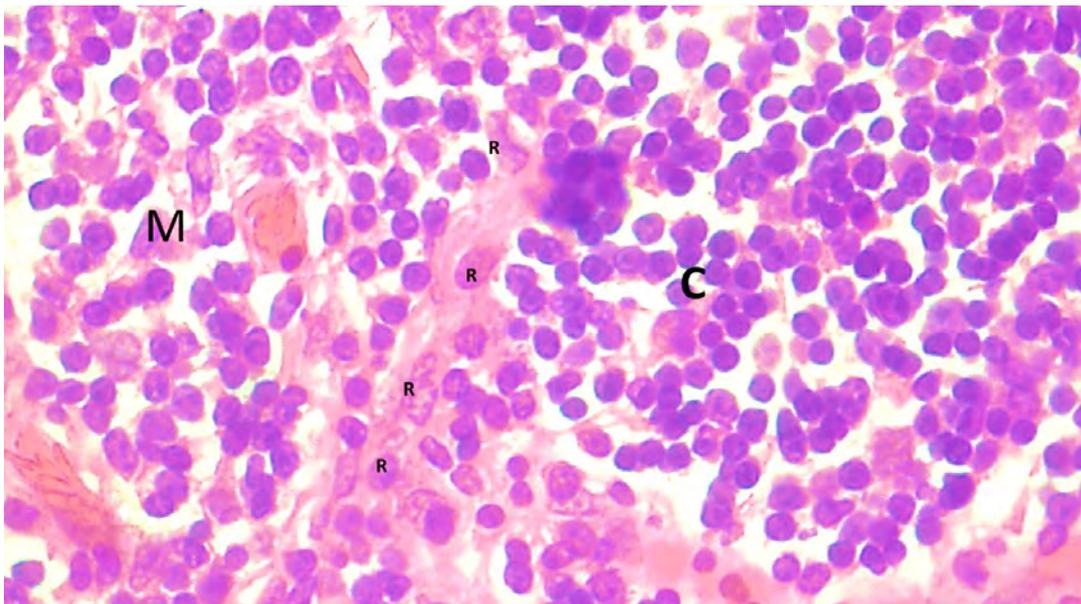
Células reticuloepiteliales del timo.



Nota. Se observa abundante cantidad de linfocitos (L), vaso sanguíneo cortical (Vs), delimitado por células endoteliales planas (flechas), y células reticulares que lo rodean (R), macrófagos (M). Hematoxilina y eosina. 1000X.

Figura. 12.

Unión corticomedular del timo.



Nota. Corteza (C), médula (M) y células reticuloepiteliales anastomosadas que marcan el límite entre corteza y médula (R). Hematoxilina y eosina 1000X.

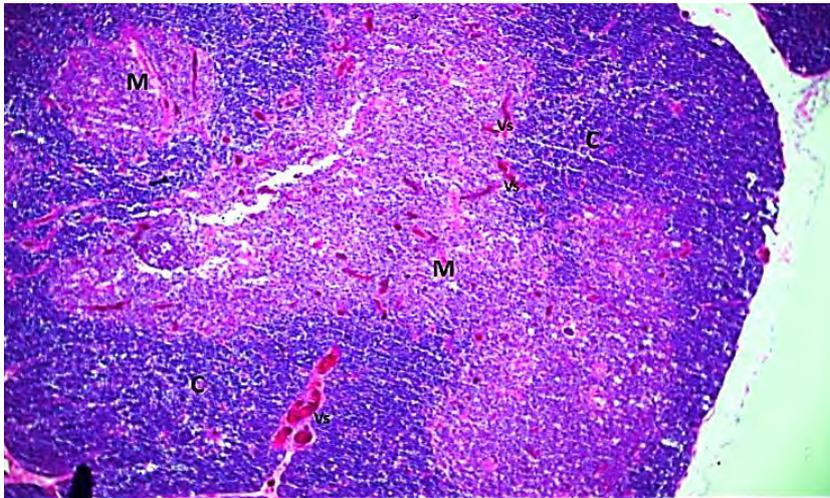
Médula

La médula está ubicada hacia la parte central del lobulillo tímico, su diferenciación es fácil de debido a la menor densidad celular, se logró observar regiones medulares comunes a dos cortezas (**Fig. 13**), lo que sería evidencia de que la región medular es común a todos los lobulillos; la médula presenta una composición celular similar a la corteza, por lo cual es común encontrar linfocitos, células plasmáticas y vasos sanguíneos. La diferencia tomando en cuenta la corteza es que las células reticuloepiteliales son más diferenciables y están organizadas de manera menos densa (**Fig. 14**), además, se lograron observar células reticulares epiteliales aumentadas de tamaño, con apariencia globosa y en aparente degeneración celular (**Fig. 15**). Sin duda el hallazgo principal fue la presencia de los corpúsculos de Hassal característico de la médula tímica, está conformado por un cúmulo de células reticuloepiteliales aplanadas y algunas degeneradas dispuestas de manera concéntrica en los cuales se puede apreciar restos citoplasmáticos y nucleares envolviendo la sustancia anhistia (**Fig.16**),

Nuestros hallazgos muestran una médula delimitada por células reticuloepiteliales tipo III unidas por uniones desmosomales que, en opinión de Pawlina & Ross, (2015) cumplen la función de presentar antígenos propios y complejos de histocompatibilidad I y II. La distribución celular de la médula es parecida a la descrita en otras especies Pearse, (2006) en ratones, Khalee et al., (2017) en conejos y Rahmoun et al., (2020) en corderos, al igual que en la llama la médula del timo está menos poblada de linfocitos debido a que existe un mayor número de células reticuloepiteliales respecto a linfocitos. Las células reticuloepiteliales presentes en la médula corresponden a células de tipo V de acuerdo con Pawlina & Ross, (2015). La presencia de corpúsculos de Hassal también fue descrita en diferentes especies, Pearse, (2006) en ratones, Khalee et al., (2017) en conejos y Rahmoun et al., (2020) en corderos.

Figura. 13.

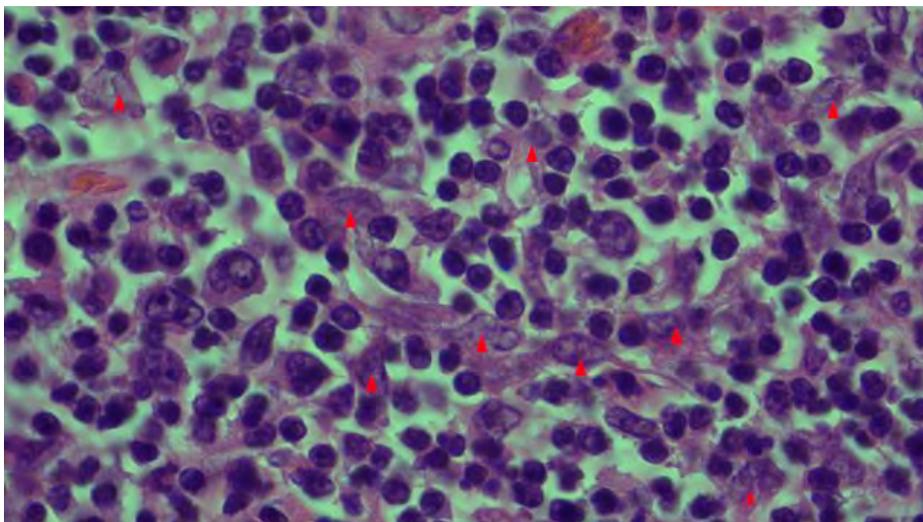
Médula del timo.



Nota. Corteza (C), vaso sanguíneo (Vs) y médula común a dos lobulillos tímicos (M), Hematoxilina y eosina.100X

Figura. 14.

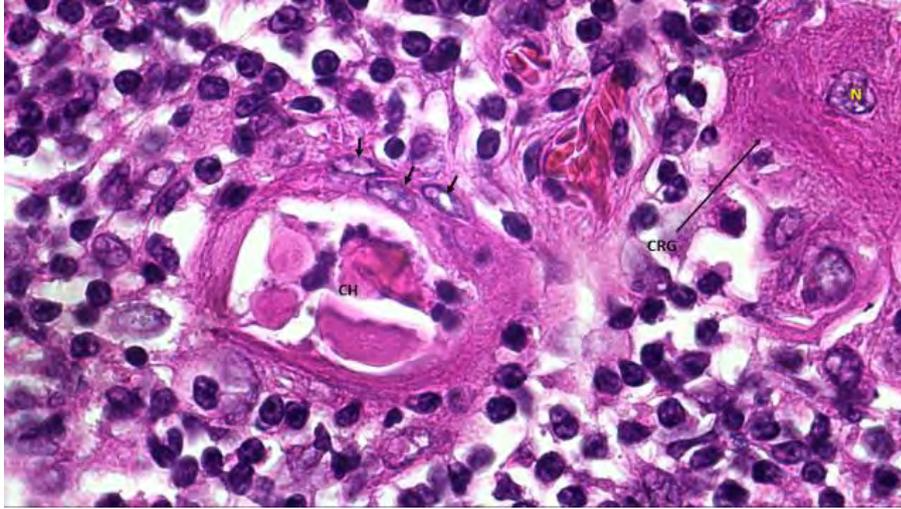
Médula del Timo.



Nota. Células reticuloepiteliales medulares (flechas rojas). Hematoxilina y eosina 1000X.

Figura. 15.

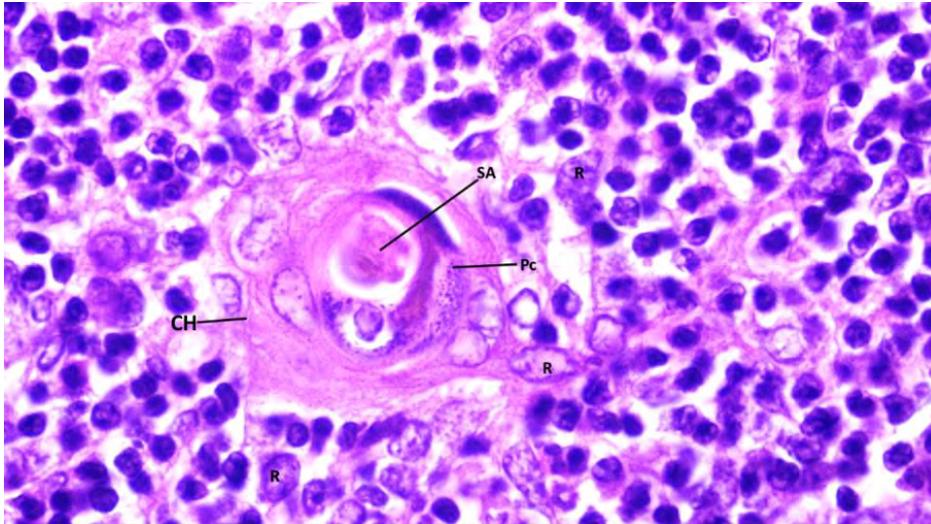
Célula reticuloepitelial degenerada del timo.



Nota. Célula reticuloepitelial globosa (CRG), núcleo (N), células reticuloepiteliales aplanadas (flechas) corpúsculo de Hassal (CH). Hematoxilina y eosina 1000X.

Figura. 16.

Corpúsculo de Hassal del timo.



Nota. Corpúsculo de Hassal (CH), pigmento citoplasmático (Pc) y sustancia anhista (SA) y célula reticuloepiteliales (R). Hematoxilina y eosina. 1000X.

4.1.2 Análisis histológico del bazo

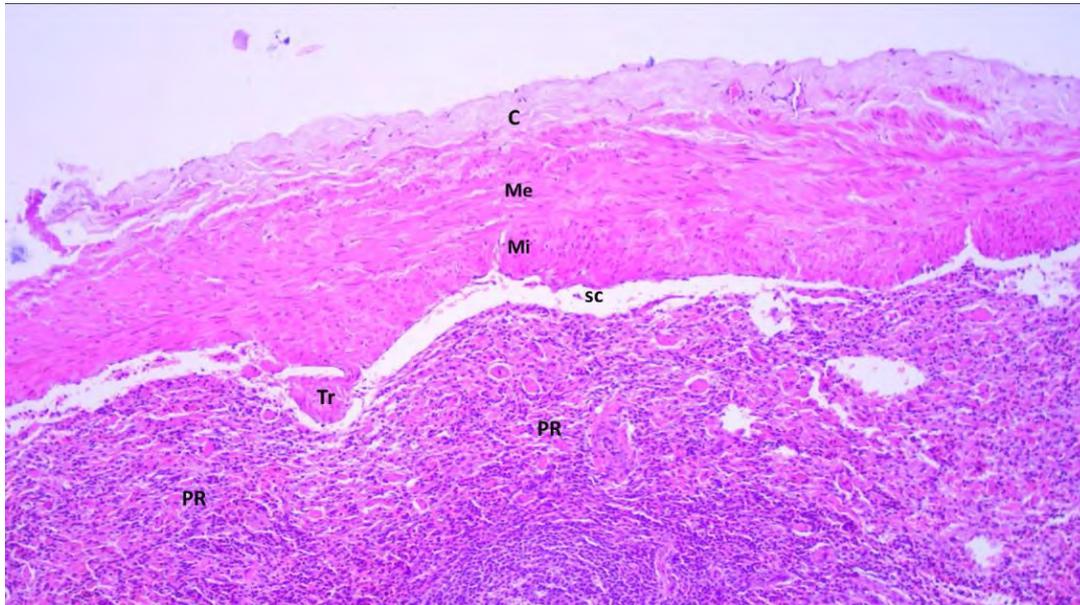
Cápsula

La cápsula de bazo de llama es evidentemente gruesa y rodea todo el contorno del órgano, en su parte más externa está conformada por tejido conectivo, logrando diferenciarse fibras colágenas y elásticas, bajo la cual se sitúan dos capas musculares lisas que ocupan aproximadamente 2/3 partes del grosor total. La cápsula está rodeada por dos capas de fibras musculares lisas, con el uso de técnicas histoquímicas se pueden visualizar fibras colágenas, linfoblastos y fibras reticulares abundantes desde la cual se encuentran proyecciones de las capas musculares hacia el parénquima formando así las trabéculas avasculares que son proyecciones capsulares hacia el parénquima y conformadas por músculo liso, fibras colágenas (**Figs. 17; 18**). También se pueden apreciar abundante cantidad de fibras reticulares (**Fig. 19**). Bajo la cápsula y las trabéculas se observaron los senos subcapsulares y trabeculares revestidos por células epiteliales planas (**Fig.20**).

El bazo de la llama es diferente al bazo de los humanos descritos por Sepulveda, (2012) el cual indica que el bazo este cubierto por tejido conectivo fibroso, pero es similar al descrito por Maina et al., (2014) en camellos los cuales poseen cápsula con doble capa; una externa de tejido conectivo y otra interna de musculo liso con presencia de fibras colágenas, a diferencia de los camellos no se pudieron identificar trabéculas vasculares lo cual está presente únicamente en camellos. De acuerdo a clasificación descrita por Haley, (2017) el bazo de llama pertenece al tipo intermedio debido al grosor y la cantidad de tejido muscular de la cápsula y las trabéculas, cumpliendo funciones linfopoyéticas y hematopoyéticas.

Figura. 17.

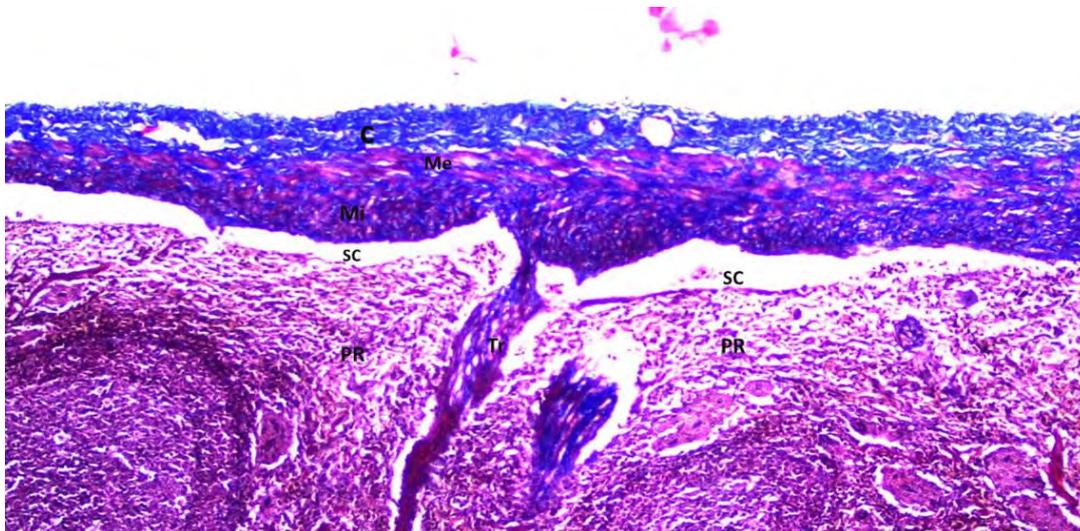
Cápsula del bazo.



Nota. Capa de tejido conectivo (C) capa muscular externa (Me) capa muscular interna (Mi) seno subcapsular (SC) trabécula (Tr) y pulpa roja (PR). Hematoxilina y eosina 100X.

Figura. 18.

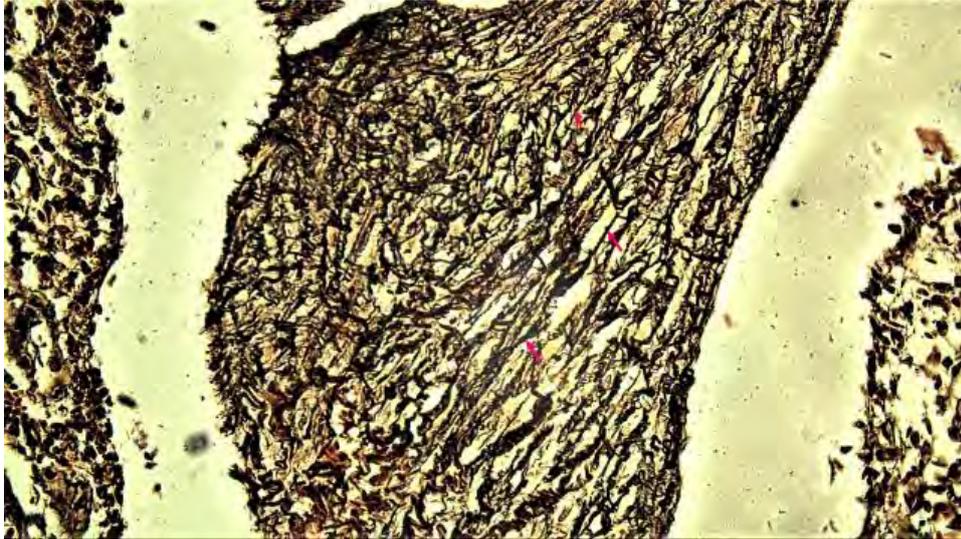
Cápsula del bazo.



Nota. Capa de tejido conectivo (C), capa muscular externa (Me), capa muscular interna (Mi), seno subcapsular (sc), trabécula (Tr) y pulpa roja (PR). Tricromico de Masson 100X.

Figura. 19.

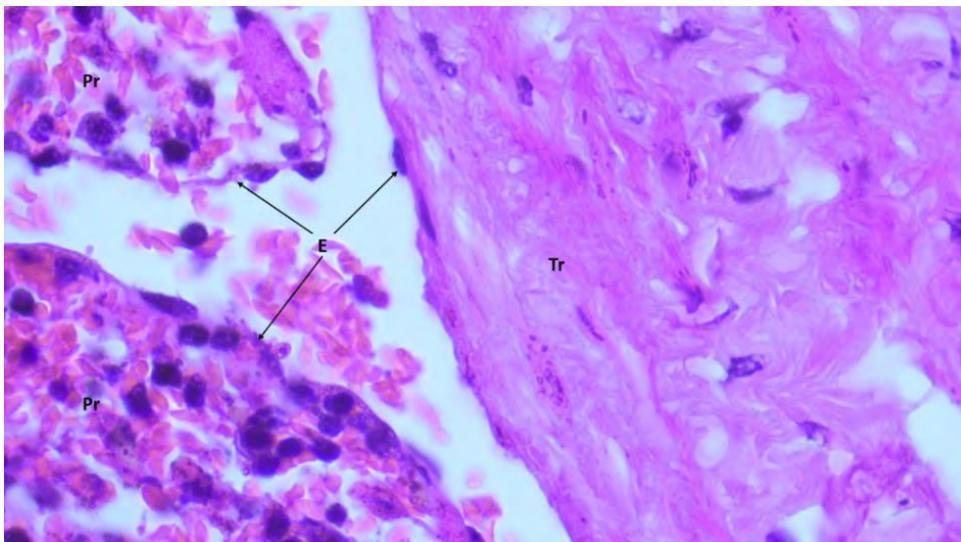
Trabécula del bazo.



Nota. Abundante cantidad de fibras reticulares (flechas). Reticulina 1000X

Figura. 20.

Seno trabecular del bazo.



Nota. Trabécula (Tr), pulpa roja (Pr), células endoteliales (E). Hematoxilina y eosina 1000x

Pulpa Blanca

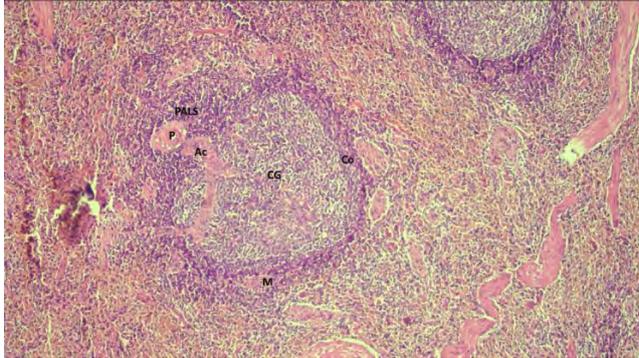
La pulpa blanca del bazo de la llama está formada por los folículos linfáticos esféricos primarios y secundarios agregados alrededor de la arteria central, poseen centros germinales claros conformados por linfocitos ubicados de manera laxa sobre las células dendríticas y

rodeadas por una corona más densa de linfocitos pequeños y separados por pulpa roja. (**Fig. 21**). Otra peculiaridad de estos es la presencia de una arteria central ubicada en su mayoría en la zona de la corona, donde también se pueden apreciar algunas células dendríticas, linfocitos relativamente pequeños y apilados de manera densa haciendo fácil su reconocimiento; la técnica histoquímica ayudo a diferenciar la presencia de fibras reticulares organizadas de manera concéntrica alrededor del folículo y en el centro germinal (**Fig. 22**). Probablemente son el soporte de la pulpa blanca.

La pulpa blanca fue descrita en la mayoría de especies, Maina et al., (2014) en camellos; Cotrina, (2017) para gatos, así como en llamas, se forma de tejido linfoide agregado alrededor de una arteria central, denominada folículo linfoide de Malpighi. De acuerdo a Cotrina, (2017) en gatos y la encontrada en nuestro estudio la mayor concentración de linfocitos se da en zona cortical del folículo de Malpighi. Los nódulos están separados por la pulpa roja, en el cerdo los elipsoides son grandes y abundantes, muchos se sitúan en las zonas marginales de las vainas periarteriales y a nivel de los nódulos linfáticos. Se manifiesta la misma localización en equinos y perros, pero los elipsoides son más pequeños. (Haley, 2017). Otra diferencia respecto a los camellos fue la descrita por Maina et al., (2014) quien afirma que la distribución de los folículos linfáticos se asemeja a la de un racimo de uvas y son agrupaciones linfáticas alrededor de una arteria (vainas linfáticas periarteriales); sin embargo nuestro estudio muestra folículos linfáticos de Malpighi separados por la pulpa roja.

Figura. 21.

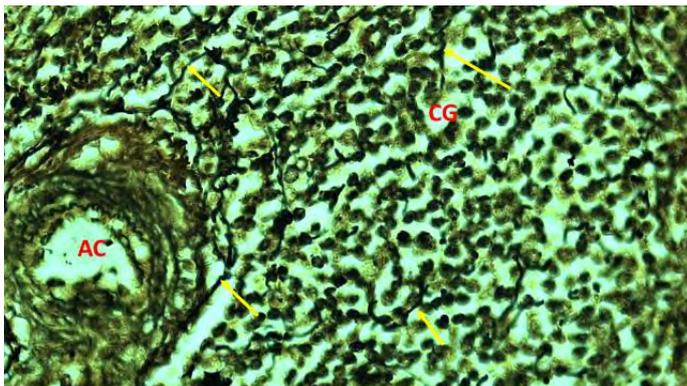
Pulpa blanca del bazo.



Nota. Centro germinal (CG), corona (Co), zona marginal (M), arteria central (Ac), arteria penicilar (P) vaina linfática periarterial (PALS). Hematoxilina y eosina 100X.

Figura. 22.

Pulpa blanca del bazo.



Nota. Arteria central (AC,) centro germinal (CG), fibras reticulares (flechas). Reticulina de Gordon Sweet 1000X.

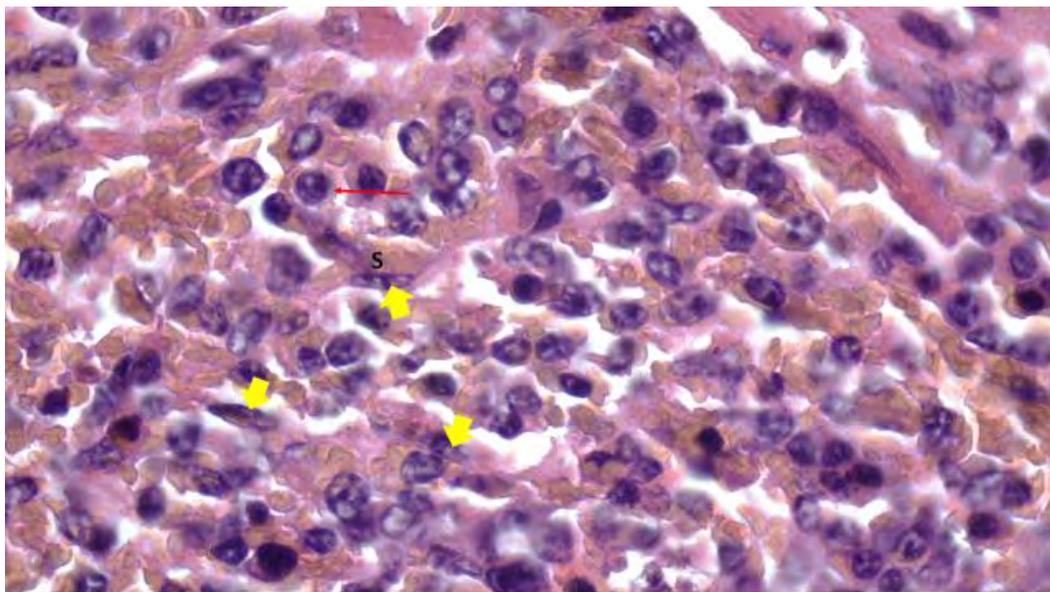
Pulpa Roja

La pulpa roja se constituye de espacios vasculares, que aparecen rodeados del por los cordones esplénicos que están integrados por una red de fibras reticulares rodeadas de una capa de células reticulares y fibras de colágeno. Las células endoteliales de los sinusoides son especiales, ya que muestran una morfología fusiforme y sus ejes longitudinales se disponen en paralelo al eje mayor del mismo (**Figs. 23; 24**).

El presente estudio demuestra que la pulpa roja está conformada por los cordones de Billroth y los sinusoides, estos están distribuidos irregularmente en la pulpa roja, estos hallazgos son similares a los reportados por Cotrina, (2017) en gatos, Maina et al., (2014) en camellos quienes sostienen que la pulpa roja está constituida por una trama reticular, suspendida en el interior del armazón conjuntivo. Los sinusoides en el camello tienen la capacidad de distenderse y contraerse realizando la función de almacenamiento de sangre descrito por Zidan et al., (2000) esta función se debe a la musculatura capsular y trabecular por lo tanto, en la llama probablemente cumpla la misma función.

Figura. 23.

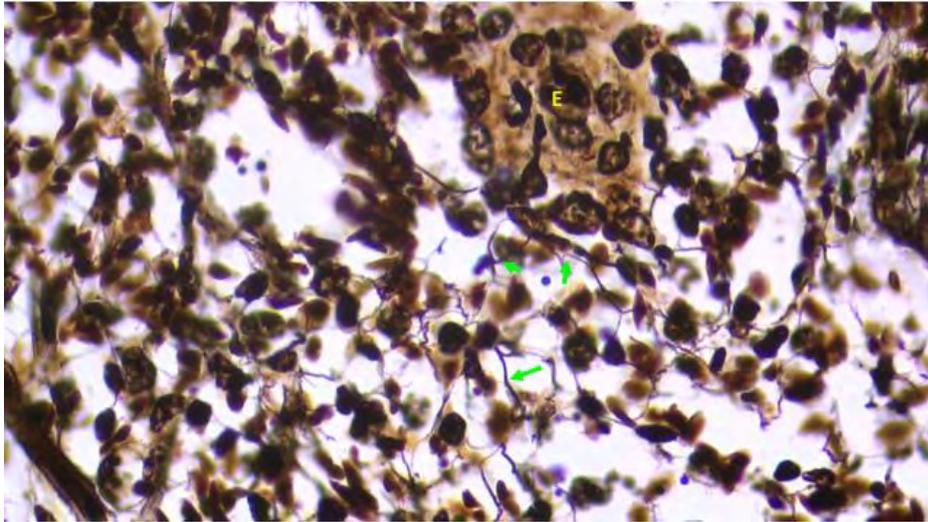
Pulpa roja del bazo.



Nota. Células endoteliales (flechas), vénula sinusoidal (S) y macrófago (flecha roja). Hematoxilina y eosina 1000X.

Figura. 24.

Pulpa roja del bazo.



Nota. Fibras reticulares de los cordones esplénicos (flechas). Reticulina de Gordon Sweet 1000X.

4.1.3 Análisis histológico del linfonodo

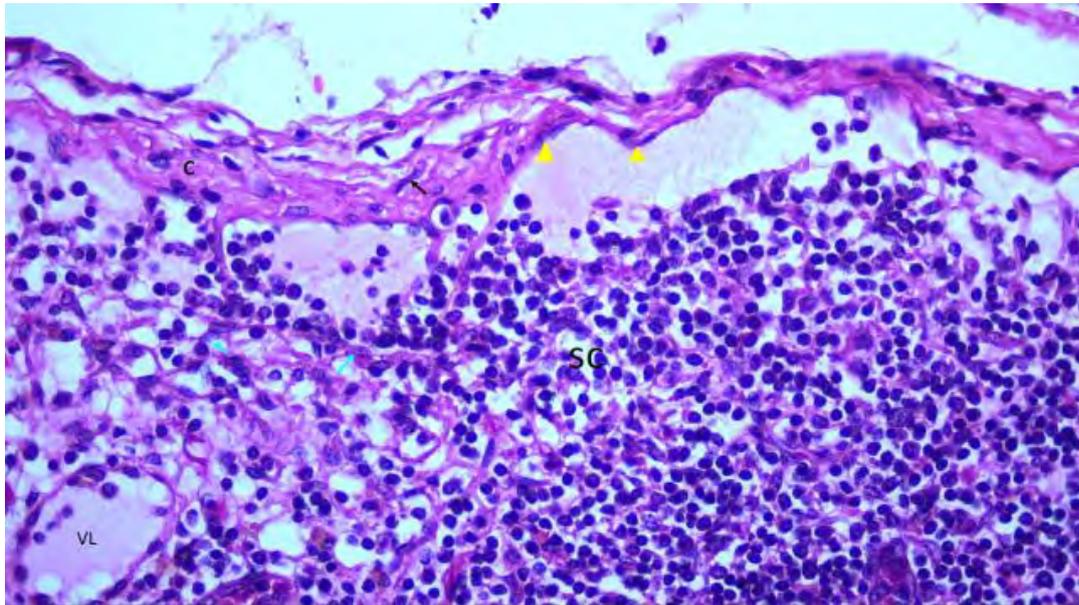
Cápsula

El análisis histológico de los linfonodos demuestra una cápsula delgada que rodea todo el contorno del órgano, formada por tejido conectivo denso regular, la técnica histoquímica de Tricrómico de Masson pone en evidencia las fibras colágenas y fibroblastos, en la cápsula se logra observar vasos linfáticos aferentes revestidos de células endoteliales que se proyectan hacia el interior del órgano, (**Figs.25; 26**). En algunas regiones la cápsula se invagina hacia el parénquima formando las trabéculas, conformadas por linfoblastos, fibras colágenas y algunas conteniendo vasos sanguíneos; en algunas zonas se logra visualizar espacios libres de linfocitos entre la cápsula, y alrededor de las trabéculas denominados senos subcapsulares y paratrabeculares. La cara interior de estas zonas está revestida por células endoteliales planas que marcan el límite entre la cápsula y el seno subcapsular, y paratrabecular bajo los cuales se pueden diferenciar linfocitos soportados por células dendríticas y fibras reticulares (**Fig.27**).

La cápsula de los linfonodos también fueron estudiadas por Zidan & Pabst, (2015) en búfalos, quienes encontraron una estructura capsular muy parecida, sin embargo, estudios realizados por Zidan et al., (2012) en búfalos de agua indican que existe diferencia de grosor capsular entre animales jóvenes y adultos, se afirma que a medida que el animal tiene mayor edad la cápsula incrementa de grosor; por otro lado Zidan & Pabst, (2012) indican que en camellos no hay diferencia ni entre edades ni sexos.

Figura. 25.

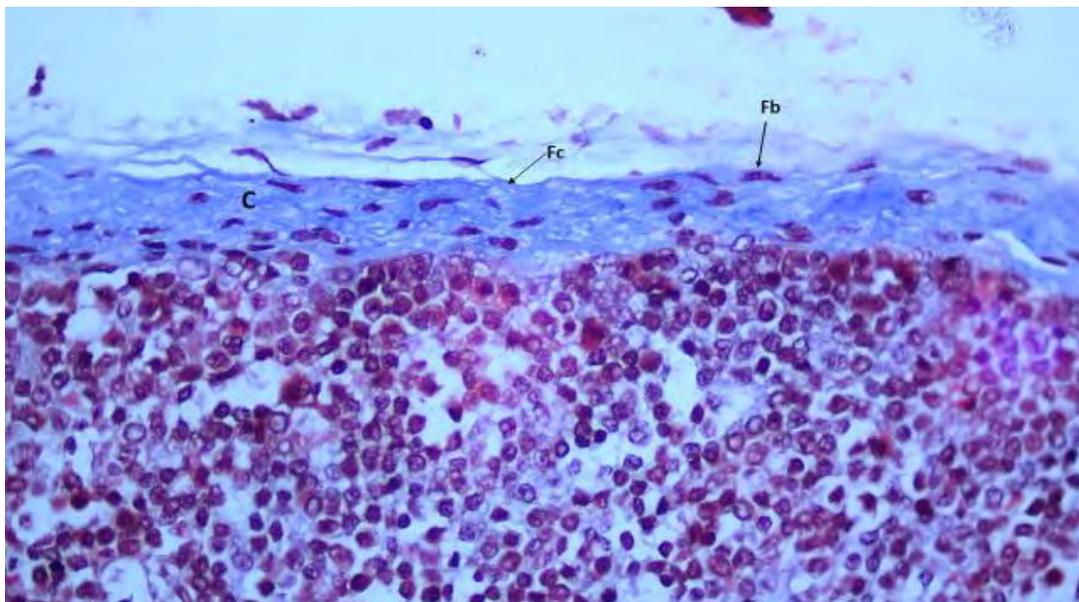
Cápsula del linfonodo.



Nota. Cápsula(C), seno subcapsular (SC), células endoteliales planas (cabeza flecha amarilla), fibra colágena (flecha negra), células reticuloepiteliales (flecha celeste), vaso linfático (VL). Hematoxilina y eosina 400X.

Figura. 26.

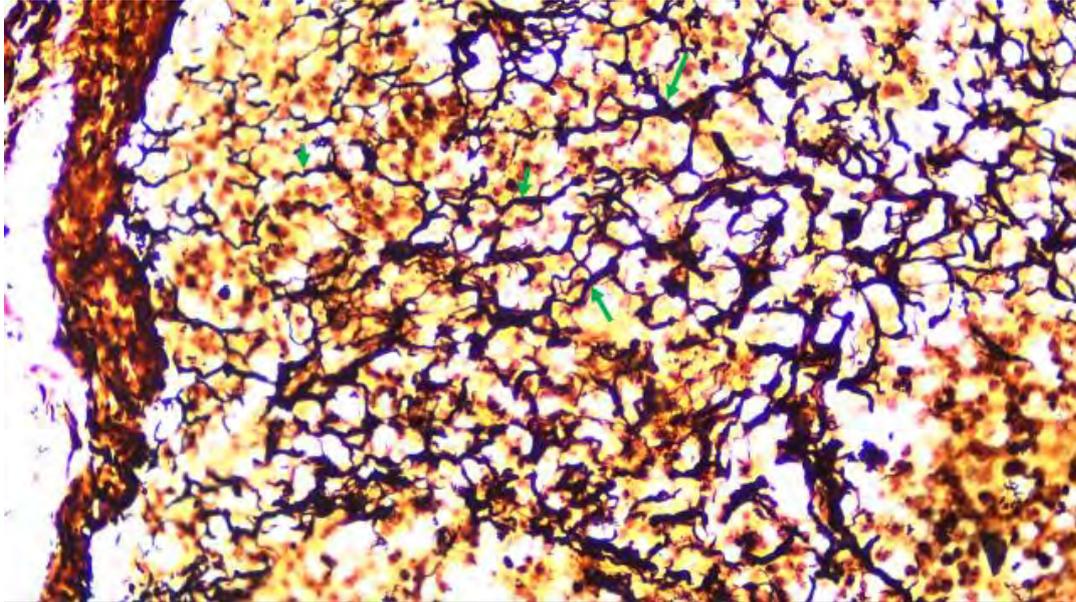
Cápsula del linfonodo.



Nota. Cápsula(C), fibra colágena (Fc), fibroblasto (Fb). Tricromico de Masson 400X.

Figura. 27.

Seno capsular del linfonodo.



Nota. Fibras reticulares (flechas). Reticulina 1000X.

Corteza

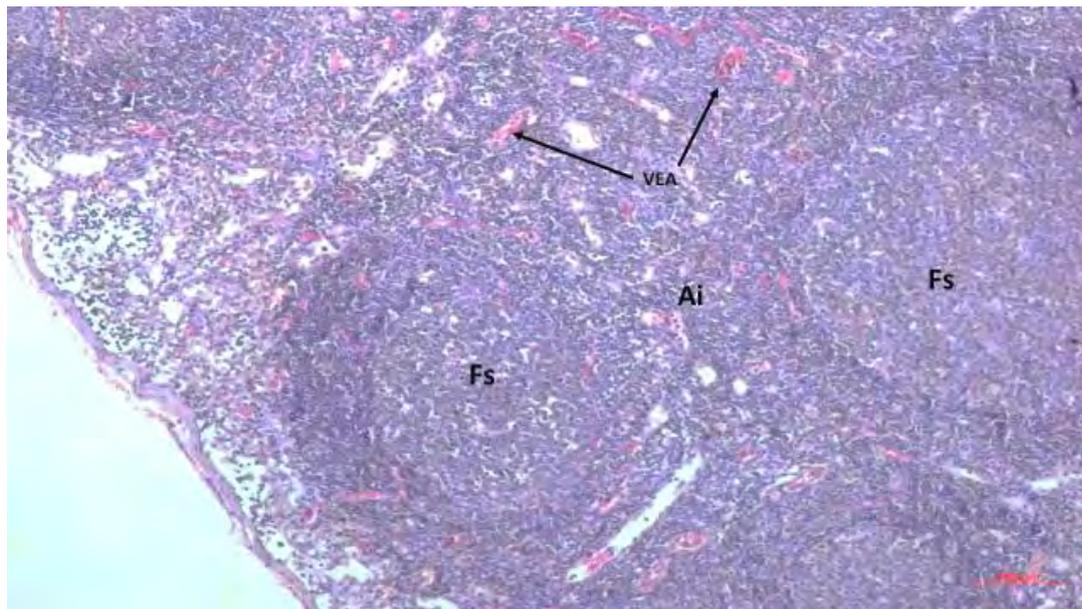
Uno de los componentes del parénquima es la corteza, esta está orientada hacia el exterior del órgano, conformada por folículos linfáticos primarios secundarios, tejido linfático interfolicular y vasos sanguíneos (**Fig. 28**), los folículos linfáticos primarios son densas acumulaciones de linfocitos, en cambio, los folículos linfáticos secundarios se evidencian por poseer centros germinales y una corteza conformada de linfocitos pequeños y por fibras reticulares que rodean el centro germinal (**Figs. 29; 30**). El tejido interfolicular ubicado entre los folículos linfáticos está formado principalmente por linfocitos dispuestos difusamente; además, en la corteza podemos apreciar abundante cantidad de vasos sanguíneos de endotelio cúbico, conocidos como vénulas de endotelio alto (**Fig. 31**).

Los hallazgos en este estudio fueron similares a los descritos por Pawlina & Ross, (2015) para humanos, Zidan & Pabst, (2015) para camellos, quienes también informan que las fibras reticulares solo rodean la corteza del folículo linfático mas no ingresan al centro germinal, las vénulas de endotelio alto en camellos están localizadas específicamente entre la corteza y la

médula diferente a nuestro estudio en el cual las vénulas endoteliales altas en la llama están distribuidas por toda la corteza. Por su parte, Pawlina & Ross, (2015) mencionan que las vénulas de endotelio alto cumplen una función importante en la circulación y concentración de la linfa, estas células endoteliales especializadas también poseen receptores para linfocitos estimulados por antígenos. Le envían la señal a los linfocitos para que abandonen la circulación y migren hacia el ganglio linfático por diapedesis (Pawlina & Ross, 2015). Este hallazgo sugiere que el linfonodo de la llama puede tener una respuesta inmunológica más eficiente debido a que la recirculación de linfocitos se lograría de manera más rápida gracias a la distribución de las vénulas de endotelio alto.

Figura. 28.

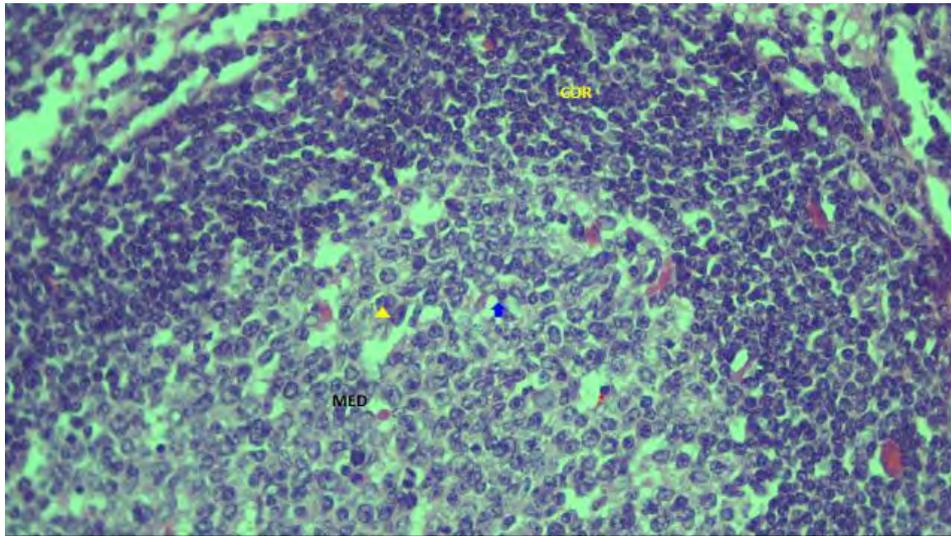
Corteza del linfonodo.



Nota. Folículo linfático secundario (Fs) área interfolicular (Ai) vénulas de endotelio alto (VEA). Hematoxilina y eosina 100X.

Figura. 29.

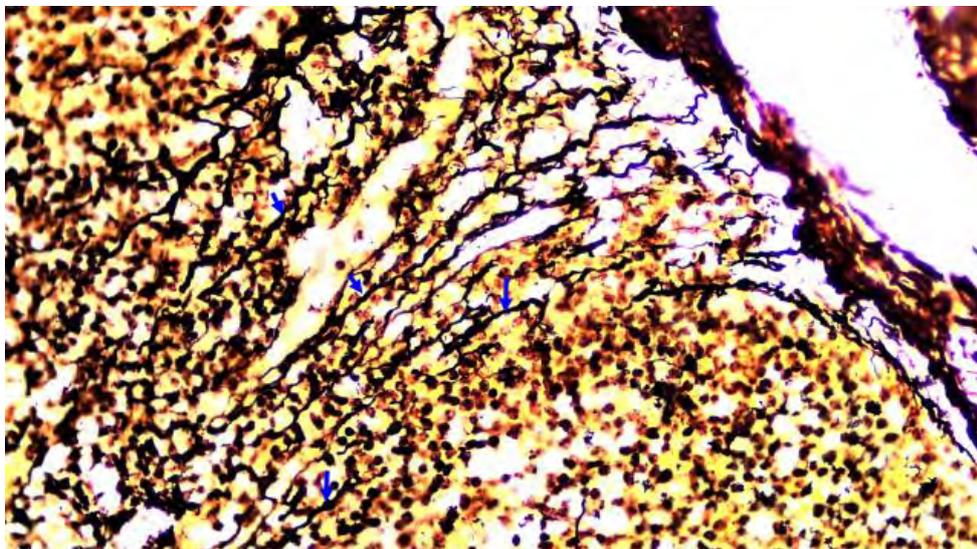
Folículo linfoide secundario del linfonodo.



Nota. Corteza (COR), médula (MED), célula dendrítica (flecha azul), linfoblasto (cabeza de flecha). Hematoxilina y eosina 1000X.

Figura. 30.

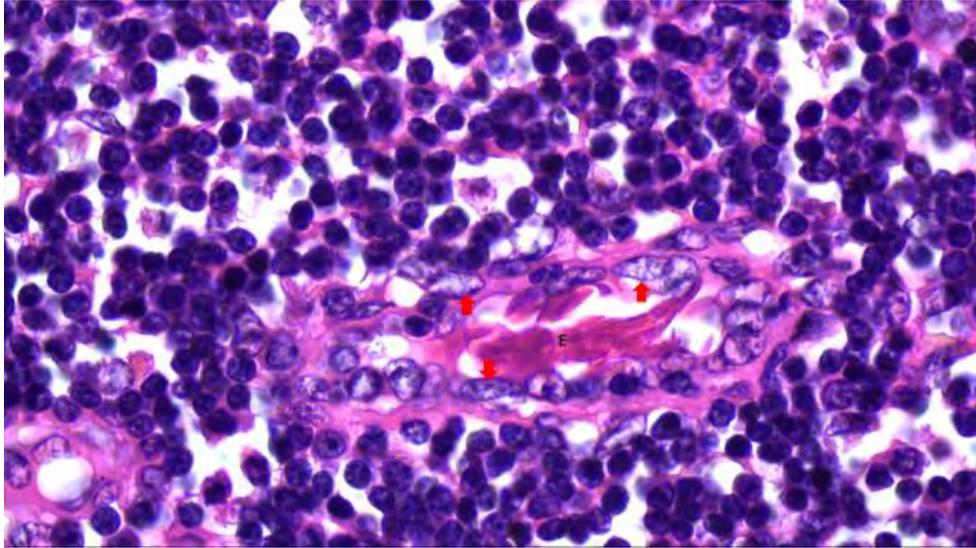
Folículo linfoide del linfonodo.



Nota. Fibras reticulares rodean folículo linfático y zona interfolicular (flechas azules). Reticulina de Gordon Sweet 1000X.

Figura. 31.

Vénula de endotelio alto del linfonodo.



Nota. Endotelio alto células endoteliales altas (flechas rojas), eritrocitos (E). Hematoxilina y eosina.1000X.

Médula

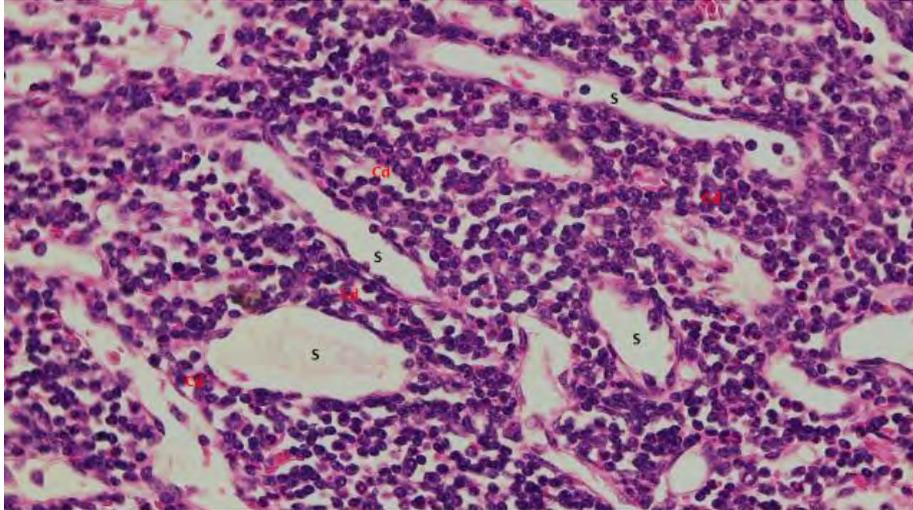
La médula está formada por cordones medulares separados por senos linfáticos (**Fig. 32**). Los cordones medulares están formados por linfocitos difusos sostenidos por células reticulares y una red de fibras reticulares (**Fig. 34**). En los cordones medulares se observan macrófagos, células plasmáticas y granulocitos, los senos linfáticos tienen tamaños variables, están revestidos por células endoteliales planas colocadas sobre una membrana basal (**Fig. 33**).

La presencia de senos medulares en la médula del linfonodo de la llama se describen en otras especies Zidan & Pabst, (2015); Liebich (2019), donde la médula queda en la parte interna del linfonodo, sin embargo, existe una varación descrita por Liebich, (2019) para los cerdos donde la médula se asemeja la corteza de otras especies y la parte exterior se asemeja la médula; los vasos aferentes entran en al ganglio por el hilio y los vasos eferentes drenan los senos; en la mayoría de especies descritas y lo encontrado en llamas (excepto en el cerdo) estos senos medulares reciben la linfa que viene de la corteza y se comunican con los vasos linfáticos eferentes por los cuales salen del ganglio linfático (Junqueira & Carneiro, 2015). Los senos

medulares descritos en las llamas coinciden con lo reportado en camellos que poseen un endotelio continuo, lo cual permite una filtración eficiente de la linfa (Zidan & Pabst, 2015).

Figura. 32.

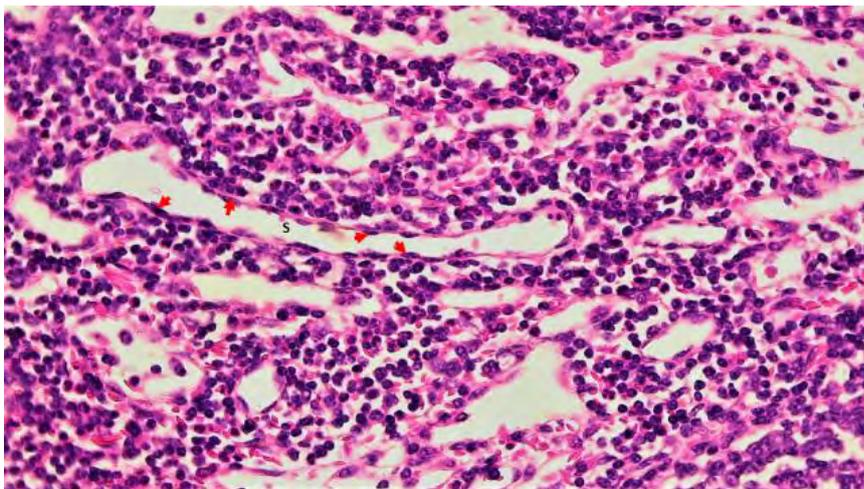
Médula del linfonodo.



Nota. Cordones medulares (Cd), senos medulares (S). Hematoxilina y eosina 400X

Figura. 33.

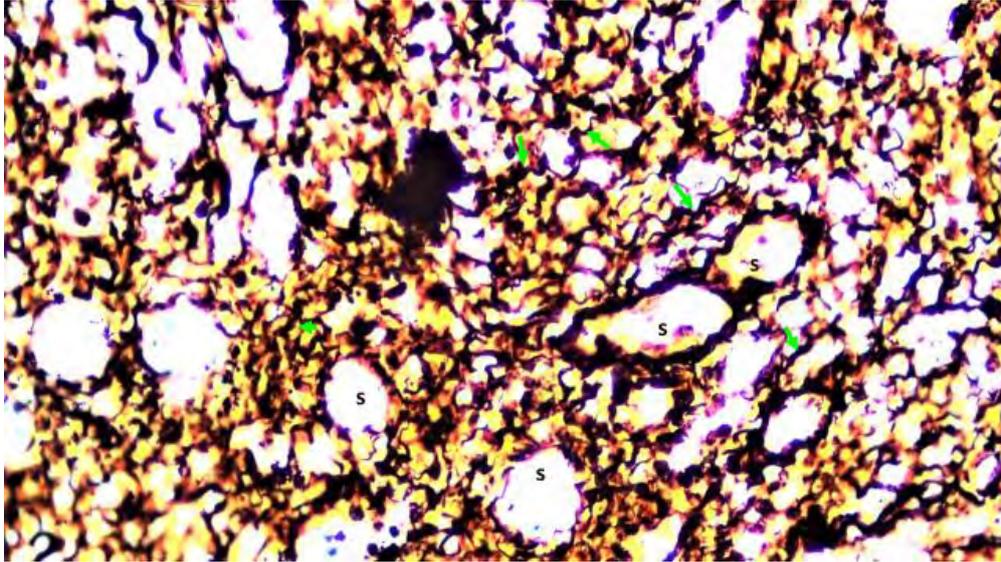
Seno medular del linfonodo.



Nota. Vénulas endoteliales planas (flecha roja), lumen del seno medular(S). Hematoxilina y eosina 1000X.

Figura. 34.

Médula del linfonodo.



Nota. Senos venosos (S), fibras reticulares de cordones medulares (flechas). Reticulina de Gordon Sweet 1000X.

4.1.4 Análisis histológico de las tonsilas

Las tonsilas en su región oral están recubiertas por un epitelio plano estratificado escamoso queratinizado, que se invagina dando lugar a criptas, las cuales están cubiertas por un epitelio escamoso estratificado no queratinizado (**Fig. 35**) bajo el estrato epitelial se puede apreciar tejido conectivo que rodea de manera incompleta el cúmulo de folículos linfoides (**Fig.36**) dentro del cual se pueden diferenciar fibras colágenas, reticulares y fibroblastos; la presencia de criptas divide el órgano en lóbulos, en los cuales se puede observar folículos linfáticos separados por áreas interfoliculares; en los cuales se pueden encontrar abundante cantidad de fibras reticulares (**Fig. 36**) y vénulas de endotelio alto (**Fig.37**).

La histología de las tonsilas muestra que está cubierto por un epitelio estratificado escamoso queratinizado que se invagina para formar criptas, similar a lo descrito por Zidan & Pabst, (2009) en camellos, Ez-Elarab et al., (2022) en equinos, Rajú et al., (2012) en ovinos; quienes informan que el epitelio de la región oral de las tonsilas palatinas están cubiertas, por un epitelio estratificado escamoso queratinizado; Castellanos, (2002) indica que en la mucosa oral existen en general constan de tres capas cuando no son queratinizados y de cuatro cuando la capa final de recubrimiento es queratinizada a saber son estrato basal, estrato granular, espinosa y queratinizada la presencia de este último estrato indicaría que el epitelio de la boca está en constante regeneración.

La presencia de criptas fueron descritas en la mayoría de especies Ez-Elarab et al., (2022) en equinos; Al-Ramadán & Alluwaimi, (2018) camellos; y Liebich, (2019) en animales domésticos y Rajú et al., (2012) en ovinos, todos los autores coinciden con lo hallado en nuestro que demuestra que el epitelio que recubre las criptas pertenecen al epitelio estratificado escamoso queratinizado, excepto en los carnívoros reportado por Liebich, (2019) quien afirma que las tonsilas de los carnívoros carecen de criptas.

Rajú et al., (2012) observó en ovinos acumulaciones de grupos de linfocitos dentro del epitelio formando un epitelio reticular, en llamas solo se pudo apreciar linfocitos difusos presentes en el epitelio.

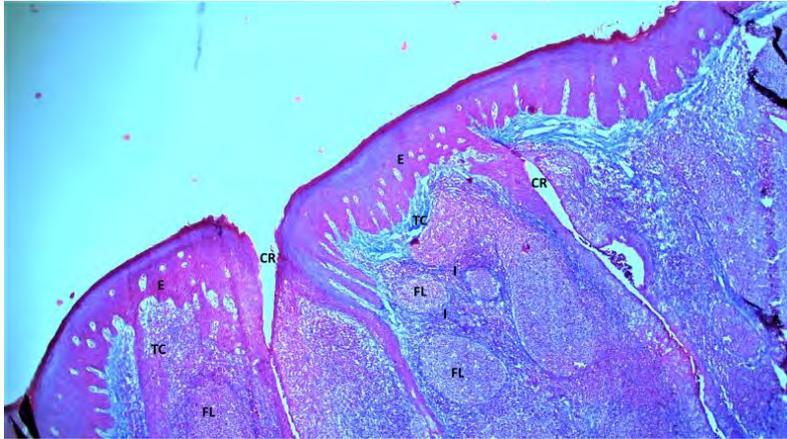
No existe un consenso sobre si las tonsilas poseen o no cápsula, sin embargo; Ez-Elarab et al., (2022) en equinos; Al-Ramadán & Alluwaimi, (2018) camellos; Rajú et al., (2012) en ovinos coinciden que bajo el epitelio oral existe una capa de tejido conectivo que recubre los agregados linfocitarios aunque no los aísla de manera completa lo que sería similar a una cápsula.

Las acumulaciones linfocitarias se encuentran en las tonsilas a manera de folículos linfáticos también descritos por Rajú et al., (2012) en ovinos, quienes afirman que estos son numerosos y poseen centros germinales, están separados por zonas interfoliculares también observadas en nuestro estudio, una característica diferente es que en las llamas la zona del manto de folículo tonsilar está orientado en su mayoría hacia las criptas.

La presencia de vasos sanguíneos en llamas es similar a la encontrada por Ez-Elarab et al., (2022) en equinos, este presenta un epitelio cúbico simple con presencia de algunos linfocitos, estas vénulas de endotelio alto son similares a los encontrados en los linfonodos y pueden llegar a cumplir una función similar, que es de transporte de linfocitos vírgenes hacia el torrente sanguíneo.

Figura. 35.

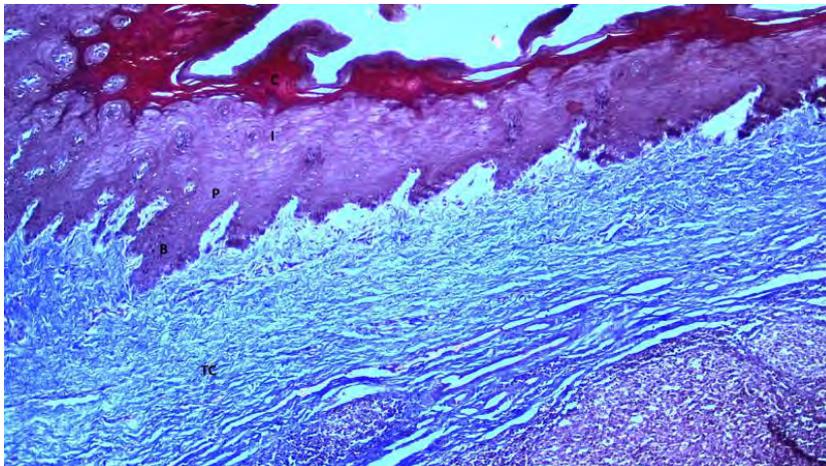
Tonsila palatina.



Nota. Epitelio estratificado queratinizado (E), cripta (CR), tejido conectivo (TC), folículo linfático (FL), área interfolicular (I). Tricrómico de Masson 40x.

Figura. 36.

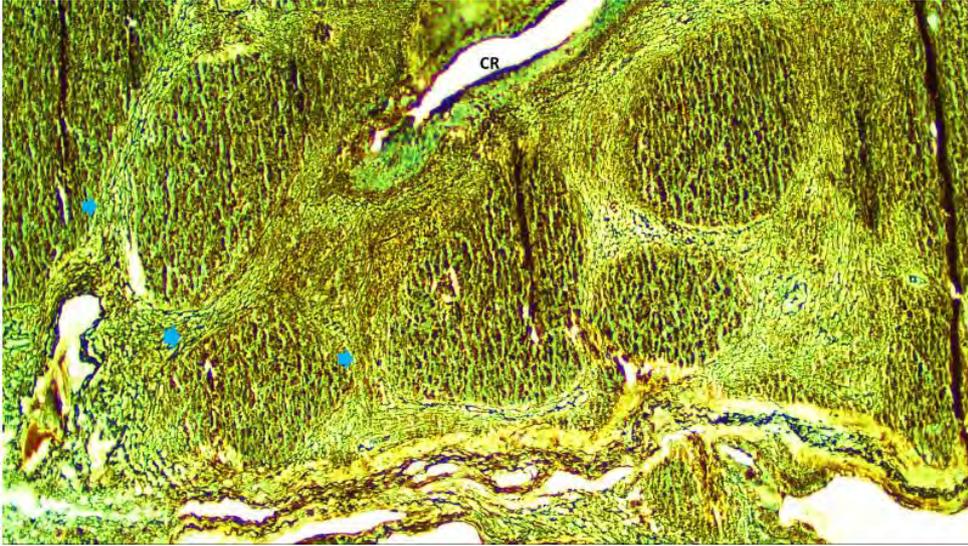
Epitelio estratificado de la tonsila palatina.



Nota. Tejido conectivo (TC), Estrato basal (B), estrato granular (P), estrato espinoso (I), estrato queratinizado (C). Tricromico de Masson 400x.

Figura. 37.

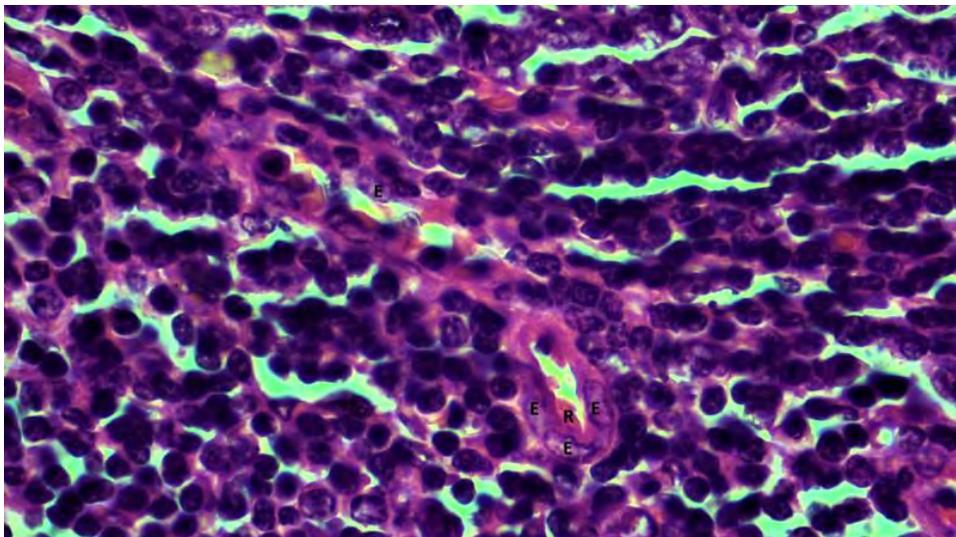
Fibras reticulares de la tonsila palatina.



Nota. Fibras reticulares (flechas celestes). Reticulina de Gordon Sweet 100x.

Figura 38.

Vénula de endotelio alto de la Tonsila Palatina.



Nota. Células epiteliales cúbicas (E), eritrocito (R). Hematoxilina y eosina 1000x.

4.1.5 Análisis histológico de las placas de Peyer

Las placas de Peyer en la llama se presentan como acumulaciones de tejido linfático en la mucosa y/o submucosa intestinal, se reconocieron dos formas entre las cuales tenemos, acumulaciones solitarias encontradas en colon (**Fig. 39**), y cúmulos de varios folículos linfáticos que forman una placa propiamente dicha visualizadas en yeyuno e íleon (**Fig.40**).

Las placas de Peyer están formadas por folículos linfoides con centros germinales poco densos situados en la submucosa del yeyuno, íleon y colon. Estos folículos linfoides están formados por linfocitos sujetos por células dendríticas, la región interfolicular está formada por linfocitos ordenados de manera difusa, sujetos por fibras reticulares (**Fig.42**). Además, se pudieron observar hacia la región del lumen intestinal células transportadoras de antígenos (células M) (**Fig. 41**), las vénulas endoteliales altas y vasos linfáticos estuvieron en su mayoría en la región anti mesentérica (**Fig.43**).

De acuerdo a Fortoul & Castell, (2017) las Placas de Peyer están localizadas dentro de la lámina propia, ocupando en algunos casos toda la submucosa intestinal, lo que coincide con lo encontrado en este estudio, en la cual se pudo apreciar una capa de células epiteliales localizadas hacia el lumen intestinal por encima por encima de las Placas de Peyer. Lowe & Anderson, (2015) afirman que estas células son especializadas en la captación y transporte de antígenos hacia las placas de Peyer, logrando de esa manera una respuesta inmune y generación de anticuerpos eficiente. Además, Bernabé et al., (2012) refieren que estas células también transportan inmunoglobulina A producida por células plasmáticas hacia el lumen intestinal.

Figura. 39.

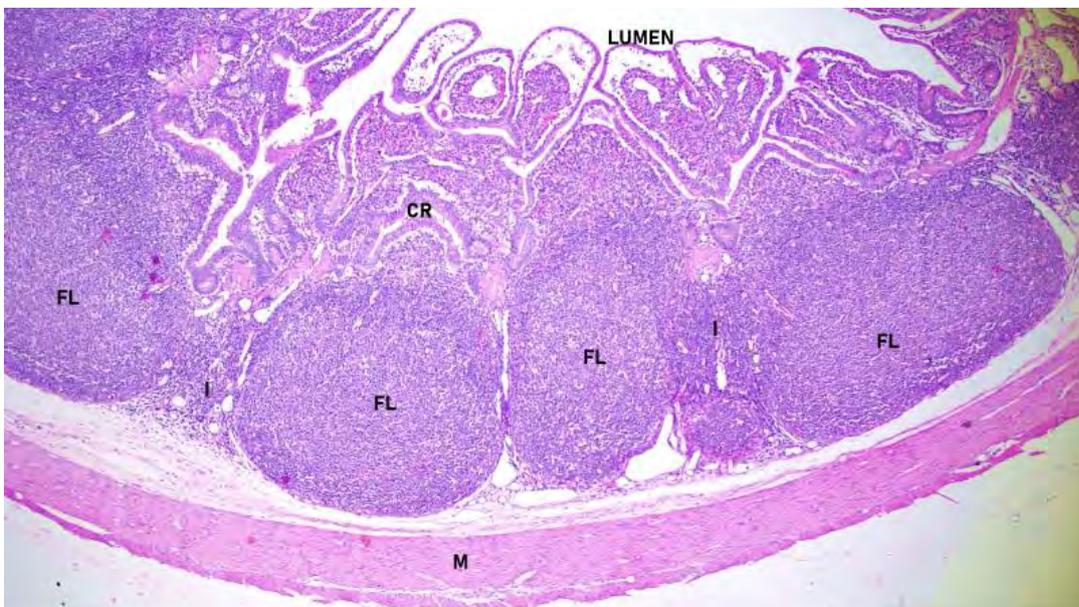
Placa de Peyer - colon.



Nota. Folículo linfático (FL), lámina propia (LP), capas musculares (M). Hematoxilina eosina 40x.

Figura. 40.

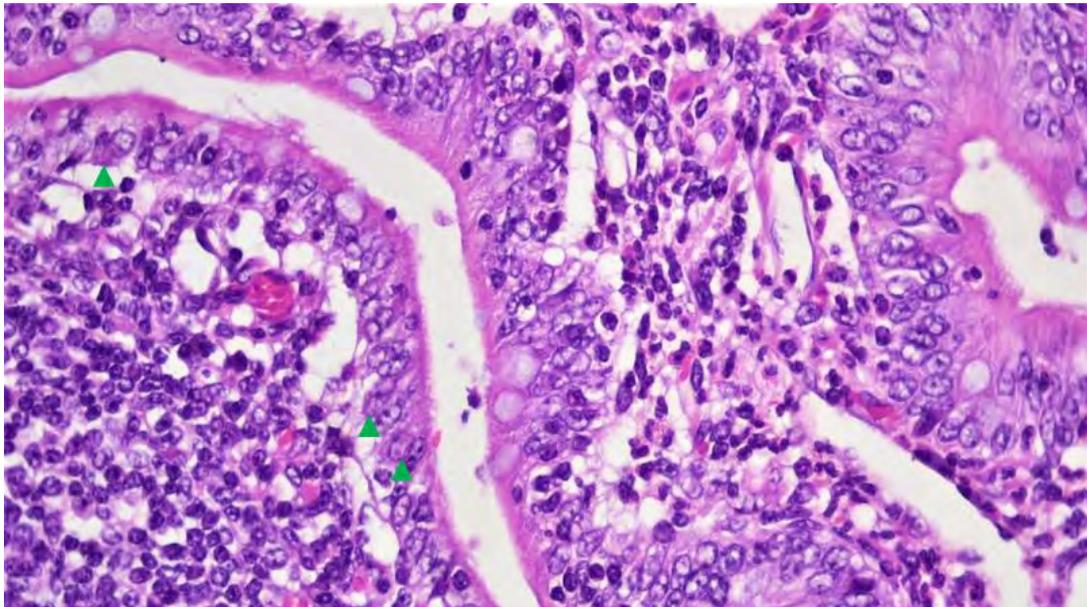
Placas de peyer-yeyuno.



Nota. Cripta de Lieberkühn (CR), folículo linfático (FL), área interfolicular (I), capas musculares (M). Hematoxilina eosina 400x.

Figura. 41.

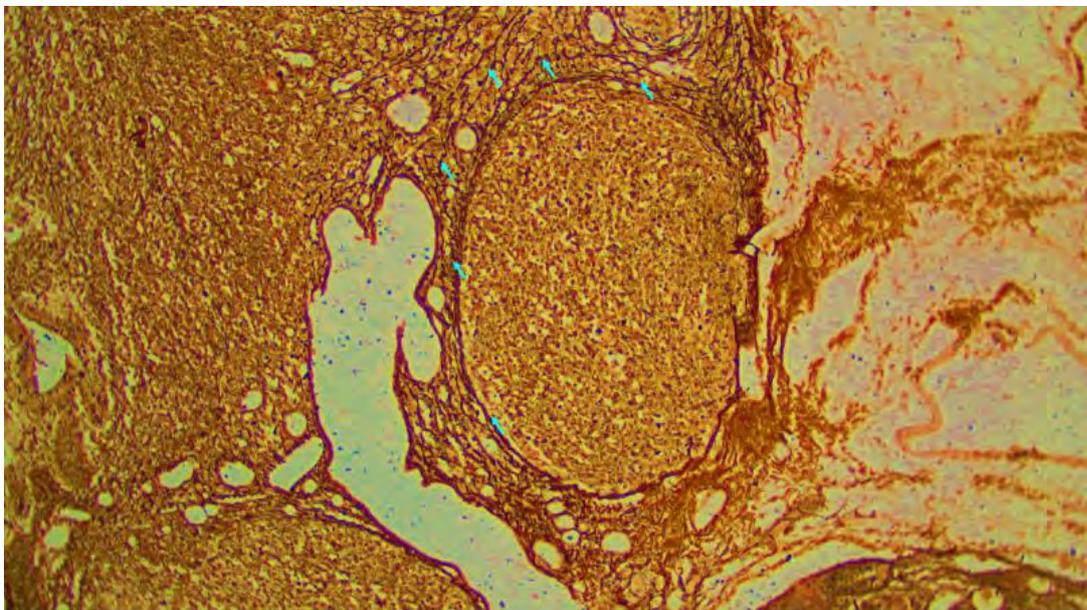
Región luminal.



Nota. Células M (flechas verdes). Hematoxilina y eosina 1000X.

Figura. 42.

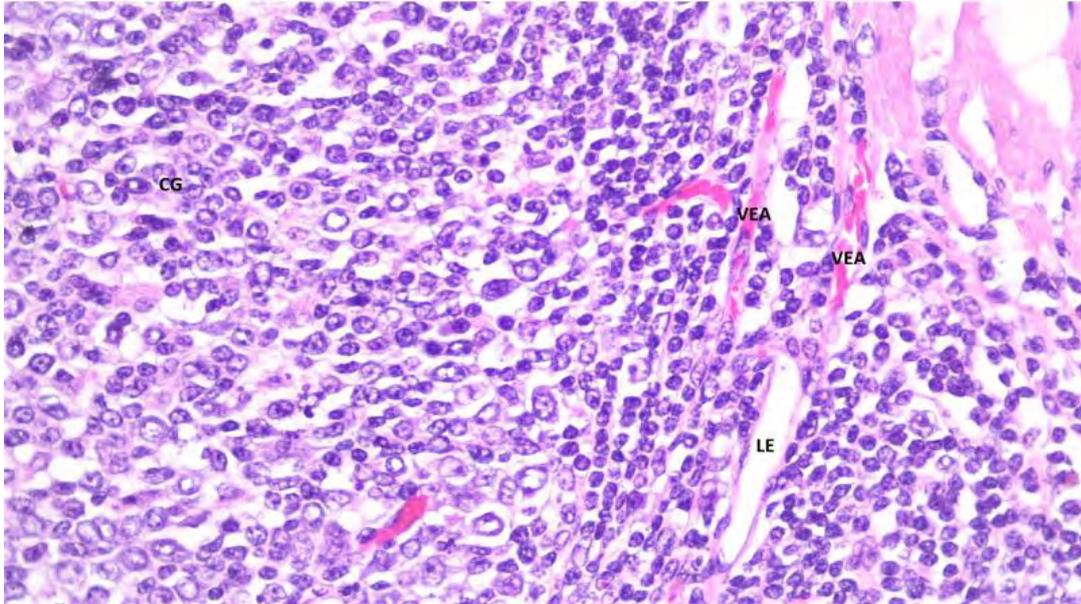
Fibras reticulares de las placas de Peyer.



Nota. Fibras reticulares (flechas celestes). Reticulina Gordon Sweet 1000X.

Figura. 43.

Vénula de endotelio alto.



Nota. Centro germinal (CG), vénula de endotelio alto (VEA), vaso linfático eferente (LE).
Hematoxilina eosina 400x.

V CAPITULO

5.1 Conclusiones

- Los órganos linfáticos de las llamas tienen una conformación estructural similar al de otras especies como alpacas, camellos y pequeños rumiantes.
- La estructura histológica del timo de las llamas tiene una apariencia lobulada rodeada por una cápsula de tejido conectivo de la cual surgen cortos septos que contienen los vasos sanguíneos, el parénquima tímico se divide en dos zonas distintas una capa exterior densa, denominada corteza, una zona interior, llamada médula zona en la cual se aprecian corpúsculos de Hassal.
- El bazo de la llama presenta una pulpa roja y blanca, en cuanto a su cápsula está conformado por tejido muscular al igual que las trabéculas.
- Los linfonodos son similares, están rodeados por una delgada capa de tejido conectivo por la cual ingresan vasos linfáticos, el parénquima presenta una corteza externa formada por nódulos linfáticos y una médula conformada por senos linfáticos, y presencia de vénulas de endotelio alto por toda la corteza.
- las tonsilas palatinas están formadas por nódulos agregados en los que los linfocitos se distribuyen en forma de zonas foliculares e interfoliculares. El epitelio de la mucosa de las tonsilas es escamoso estratificado queratinizado que cambia a epitelio escamoso no queratinizado en las criptas, se lograron encontrar linfocitos dentro de las criptas y en el tejido conectivo bajo la capa epitelial.
- Las placas de Peyer en las llamas están formadas por folículos linfoides, ya sea solitario o cúmulos de varios de ellos, y están estrechamente en contacto con el lumen intestinal logrando encontrar linfocitos en el epitelio intestinal además existe la presencia de vasos linfáticos eferentes y células M hacia el lumen.

5.2 Recomendaciones.

- Se recomienda complementar el presente estudio con evaluaciones inmunohistoquímicas para determinar las subpoblaciones celulares de los órganos linfoides y establecer su ubicación estratégica en cada órgano.
- Realizar estudios histomorfométricos para determinar las medidas de los componentes del estroma y parénquima de cada órgano.
- Realizar estudios histológicos e inmunohistoquímicos tomando en cuenta distintos grupos etarios y determinar si existe diferencias.
- Realizar estudios de organogénesis de los tejidos linfoides asociados a mucosas (tonsilas y placas de Peyer).
- Realizar estudios similares en otros camélidos como la vicuña y el guanaco.

VI CAPITULO

Referencias

- Abbas, A., Lichtman, A., & Pillai, S. (2015). *Inmunología celular y molecular*. elsevier.
- Achaaban, M. R., Mouloud, M., Tligui, N. S., & El Allali , K. (2016). Main anatomical and histological features of the tonsils in the camel (*Camelus dromedarius*). *Trop Anim Health Prod*. <https://doi.org/10.1007/s11250-016-1139-x>
- Al Ramadan, S. Y., Al-Mohammed Salem, T., Alshubaith, I. H., Al-Ali, A. M., Abohelaika, S., Moqbel, M. S., & Alluwaim, A. M. (2021). Selected Aspects of Camel Immune System and Immune Responses. *Open Journal of Veterinary Medicine*. <https://doi.org/2165-3364>
- Al-Ramadán, S., & Alluwaimi, M. (2018). El tejido linfoide en las amígdalas palatinas del camello dromedario (*Camelus dromedarius*). *Revista de práctica e investigación de camellos*. <https://doi.org/10.5958/2277-8934.2018.00010.3>
- Arias , W., Sandoval, N., Chavera, A., & Manchego, A. (2011). CARACTERIZACIÓN DE LA CITOARQUITECTURA ESPLÉNICA FETAL DE ALPACAS (*Lama pacos*). *Rev Inv Vet Perú*.
- Avilés, D. F., Montero, M., & Barros-Rodríguez, M. (2018). LOS CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS: PRODUCTOS Y SUBPRODUCTOS USADOS EN LA REGION ANDINA. *Actas Iberoamericanas en Conservación Animal*, 11, 30-38.
- Bernabé, A., Navarro, J., & Pallarés, S. (2012). *Organos linfoides*. universidad de Murcia.
- Brüel, A., Christensen, E., Trantum-Jensen, J., Qvortrup, K., & Geneser, F. (2015). *Histología sobre bases biomoleculares* (Tercera ed., Vol. 4). Madrid: Médica Panamericana. <https://doi.org/9788411060639>
- Brusco, H. A., López, J. J., & Loidl, C. F. (2014). *Histologia Medico- practica*. Elsevier.
- Castellanos , J. L. (2002). *Mucosa bucal*. *Revista ADM*. <https://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2002/od022g.pdf>
- Cotrina, M. A. (2017). *Histología del bazo en gatos (Felis silvestris catus), en dos periodos de desarrollo- Cajamarca*. Cajamarca.

- Del Campo, S., Morchón, V., Blanco, G., Domínguez, J. L., & De la Rosa, J. J. (2010).
<http://www.gapllano.es>. Retrieved 25 de 06 de 2018, from
<http://www.gapllano.es/enfermeria/guias/TINCIoN%20DE%20GOMORI%20O%20RETICULINA.pdf>
- Dellman, H. D., & Brown, E. M. (1993). *Histología Veterinaria*. Zaragoza: Editorial Acribia.
- Evans, H., De la Hunta, A., & Hermanson, J. (2020). The lymphatic system. En *Anatomy of the Dog*. Elsevier.
- Ez-Elarab, S. M., El-Gendy, A. A., El-Bakary, N. E., & Alsafy, M. A. (2022). Ultrastructure of the palatine tonsils of the donkey (*Equus asinus*): New insights by light, scanning, and transmission electron microscopy. *Microsc Res Tech*.
<https://doi.org/10.1002/jemt.24245>
- Flores, J., Navarrete, M., & sato, A. (2020). Descripción anatómica de las placas de Peyer en el intestino delgado de la alpaca (*Vicugna pacos*). *Rev Inv Vet Perú*.
<https://doi.org/10.15381/rivep.31i3.18175>
- Fortoul, T., & Castell, A. (2017). *Histología y biología celular* (3 ed.). Mexico: Mc Graw Hill. <https://doi.org/978-607-15-1408-0>
- Fucasud. (1994). *Excorta anatomía camelidae: El bazo de la llama* (primera ed.). Buenos Aires - Argentina: Fundación de camélidos sudamericanos.
- García, A. S., & Mayta, M. (2018). LA PRODUCCION DE LLAMAS Y ALPACAS PARA LA INDUSTRIA Y LA ALIMENTACION EN LA REGION PASCO AL AÑO 2010 - 2017. pasco: tesis para optar grado de economista.
- Gartner, L. P., & Hiatt, J. L. (2011). *Histologia Basica*. Elsevier.
- Gutiérrez, J. A. (2010). *Inmunología veterinaria*. México: Manual moderno.
- Haley, P. J. (2017). The lymphoid system: a review of species differences. *J Toxicol Pathol*. .
<https://doi.org/10.1293/tox.2016-0075>
- INEI. (2014). Instituto Nacional de Estadística e Informática. Retrieved 10 de 05 de 2018, from Población pecuaria:
https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1253/cap12/cap12.htm

- Junqueira, L. C., & Carneiro, J. (2015). *Histologia Basica texto y atlas*. editorial medica Panamericana.
- Khalee, I. M., Alameer, A., Alkazraji, K. I., & Alshammary, H. (2017). Anatomical and histological study of the thymus gland in native rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Al-Qadisiyah Journal of Veterinary Medicine Sciences*.
- Liebich, H. G. (2019). *Veterinary histology of domestic mammals and birds (Vol. 5)*. <https://doi.org/9781789180091>
- Lowe, J. S., & Anderson, P. G. (2015). *Histologia Humana*. Elsevier.
- Maina, M. M., Usende, I. L., Igwenagu, E., Onyiche, T. E., Yusuf, Z., & Ntung, N. O. (2014). Gross, Histological and Histomorphometric Studies on the Spleen of One Humped Camel (*Camelus Dromedarius*) Found in the Semi-Arid Region of North Eastern Nigeria. *Journal of Veterinary Advances*, 4(10), 703-711. <https://doi.org/10.5455/jva.20141025045543>
- Melgarejo, R. G. (2018). *Anatomía macroscópica de las arterias y venas del timo durante la etapa fetal en la alpaca (Vicugna pacos)*. tesis para optar titulo profesional.
- Merck. (2018). www.merckmillipore.com. Retrieved 29 de 06 de 2018, from http://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-ES-Site/es_ES/-/EUR/ShowDocument-File?ProductSKU=MDA_CHEM-100485&DocumentId=200703.321.ProNet&DocumentUID=14056&DocumentType=PI&Language=ES&Country=NF&Origin=PDP.
- Mohamed, z., & Reinhard, P. (2012). Histological, histochemical and immunohistochemical study of the lymph nodes of the one humped camel (*Camelus dromedarius*). *Vet Immunol Immunopathol*. <https://doi.org/doi:10.1016/j.vetimm.2011.11.004>.
- Pawlina, W., & Ross, M. (2015). *ROSS Histología texto y atlas*. Buenos Aires: Wolters Kluwer.
- Pearse, G. (2006). Normal structure, functional and histology the thymus. *Toxico.Patho*.
- Rahmoun, D. E., Lieshchova, M. A., Chaanbi, S., & Chergui, S. (2020). Study of anatomical, histological and cytological characteristics of the thymus of lambs. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 8(2). <https://doi.org/10.32819/2020.82021>

- Raju, N. K., Ramesh, G., Basha, B. H., Ushakumary, S., & Kishore, P. V. (2012). Microarchitecture of the Palatine Tonsil in Sheep (*Ovis aries*). *Int. J. Morphol.*,.
- Rebellato, M. (2018). *Spleen. Lymph nodes and thymus*. 2^a ed. Academic Press. .
- Reda, I. E., AboSalem, S. E., El Zoghby, E. M., Attia, H. F., & Emam, M. A. (2019). Some histological studies on thymus gland of mature and senile rabbits. *BENHA VETERINARY MEDICAL JOURNAL*, 218-226.
- Rodríguez, A. R., Gutiérrez , G. A., & Wurzinger, M. (2021). Caracterización de la crianza de llamas (*Lama glama*) en la Region Pasco, Perú. *Rev Inv Vet Perú*, 3, 32.
<https://doi.org/10.15381/rivep.v32i3.18030>
- Sepulveda, J. (2012). *Texto atlas de histologia biologia celular y tisular*. Mc Grau Hill.
<https://doi.org/9786071506337>
- Tizard, I. R. (2018). Órganos del sistema inmunitario. En I. R. Tizard, *Inmunologia Veterinaria* (pág. 108). ELSEVIER.
- Universidad de Vigo. (2018). <https://mmegias.webs.uvigo.es>. Retrieved 02 de 06 de 2018, from <https://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/protocolos/p-tincion-h-e.php>
- Zidan, M., & Pabst, R. (2009). The Microanatomy of the Palatine Tonsils of the One-Humped Camel (*Camelus dromedarius*). *Oral biology*. <https://doi.org/10.1002/ar.20948>
- Zidan, M., & Pabst , R. (2015). Histology and ultrastructure of the lymph nodes of the buffalo (*Bos bubalus*). *Anat Histol Embryol*, 161. <https://doi.org/10.1111/ahe.12120>. Epub 2014 May 8.
- Zidan, M., & Pabst, R. (2020). Histological characterization of the lingual tonsils of the one-humped camel (*Camelus dromedarius*). *Cell Tissue Res*.
<https://doi.org/10.1007/s00441-019-03135-2>
- Zidan, M., Kassem, A., Dougbag, a., El Gazzawi, E., El Aziz, M., & Pabst, R. (2000). The spleen of the one humped camel (*Camelus dromedarius*) has a unique histological structure. *J. Anat.*

Zidan, M., Zaghloul, D., Derbalah, A., & Elghoul, M. (2012). Age Related Morphological Changes in Hemal Nodes of the Egyptian Water Buffalo (*Bos Bubalus*). ALEX. J. VET. SCIENCE.

6.1 Anexos

Anexo 1.

Ejemplares para colección de muestras.



Anexo 2.

Bazo de llama para listo para corte de muestras



Anexo 3.

Muestras de diferentes órganos para transporte al laboratorio de histología y patología.



Anexo 4.

Colocación de las muestras en los cassetes.



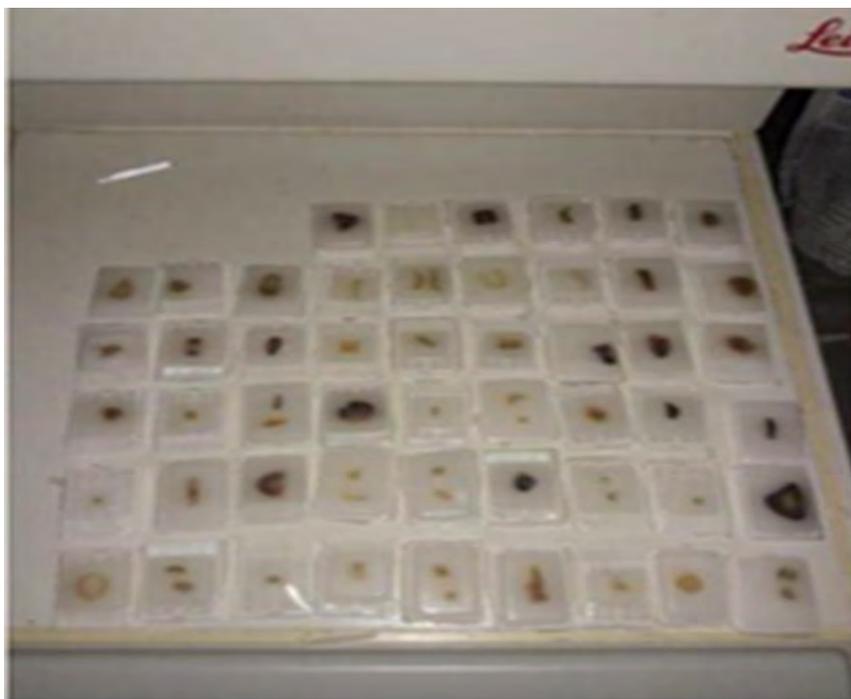
Anexo 5.

Proceso de elaboración del taco histológico.



Anexo 6.

Tacos histológicos en la plancha de enfriamiento.



Anexo 7.

Proceso de corte de tacos histológicos.



Anexo 8.

Tinción de láminas histológicas.



Anexo 9.

Láminas histológicas obtenidas.



Anexo 10.

Equipo de trabajo.

