

# Caracterización citológica de hepatopatías en perros y gatos

Rosciani, A.S.<sup>1</sup>; Merlo, W.A.<sup>1</sup>; Insfrán, R.M.<sup>1</sup>;  
Benítez Ruiz Díaz, J.S.<sup>1</sup>; Locket, M.<sup>2</sup>; Koscinczuk, P.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Diagnóstico Histopatológico y Citológico, <sup>2</sup>Servicio de Ecografía del Hospital de Clínicas, <sup>3</sup>Cátedra de Patología Médica, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE, Sargento Cabral 2139, Corrientes (3400), Argentina. Tel/Fax 03783-425753. E.mail: arosiani@vet.unne.edu.ar.

## Resumen

**Rosciani, A.S.; Merlo, W.A.; Insfrán, R.M.; Benítez Ruiz Díaz, J.S.; Locket, M.; Koscinczuk, P.: Caracterización citológica de hepatopatías en perros y gatos. Rev. vet. 18: 2, 111–116, 2007.** Diferentes técnicas diagnósticas complementarias se han aplicado durante los últimos años en medicina veterinaria. Debido a su implementación se han realizado diagnósticos novedosos en animales, pero aún es necesario determinar sensibilidad y especificidad de las mismas. Para la evaluación de las enfermedades hepáticas se dispone fundamentalmente de técnicas no invasivas, como las pruebas bioquímicas, la ultrasonografía y otras. La realización de biopsias es fundamental en muchos casos para determinar la causa o el pronóstico de las alteraciones encontradas, por lo cual todas estas técnicas deben considerarse como parte de un sistema de diagnóstico integrado. Se describen aquí los resultados de la realización de la técnica de punción con aguja fina guiada por ecografía, aplicada a veintidós pacientes con sintomatología hepática, que concurrieron al Hospital de Clínicas de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNNE durante el primer semestre del año 2007. Se detallan hallazgos citológicos significativos para la caracterización de diferentes hepatopatías en perros y gatos.

**Palabras clave:** perro, gato, hepatopatías, citodiagnóstico.

## Abstract

**Rosciani, A.S.; Merlo, W.A.; Insfrán, R.M.; Benítez Ruiz Díaz, J.S.; Locket, M.; Koscinczuk, P.: Cytological characterization of hepatopathies in dogs and cats. Rev. vet. 18: 2, 111–116, 2007.** Different complementary diagnostic techniques have been applied in veterinary medicine during the latest years, and novel diagnoses in animals have been done due to their implementation. Nevertheless, sensibility and specificity have to be still determined for these methods. To evaluate liver diseases, non invasive techniques like biochemical tests and ultrasonography are available. In many cases, biopsies are necessary to determine ethiology and prognosis of the alterations. Therefore, all of these techniques have to be considered as part of an integrated diagnostic system. In this report, the authors present the results of ecography-guided fine needle cytologies from twenty two patients with hepatic symptoms, from Hospital de Clínicas, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE, performed during the first semester of 2007. Significant cytological findings that characterize different hepatopathies in dogs and cats are detailed.

**Key words:** dog, cat, hepatopathies, cytodiagnostic.

## INTRODUCCIÓN

Las disciplinas asociadas a procedimientos diagnósticos se han desarrollado velozmente durante las dos últimas décadas, motivadas por el deseo de comprender diferentes patologías y defender los tratamientos efectuados. Esto es particularmente cierto en medicina humana, donde cada vez son más los métodos comple-

mentarios utilizados antes de realizar un diagnóstico. En medicina veterinaria, la práctica de estas pruebas también es cada vez más frecuente, más allá del costo adicional que implican. Esto ha permitido diagnosticar patologías que hasta el presente no se consideraban dentro de la casuística clínica de los caninos y felinos. No obstante, aún queda por determinar el grado de sensibilidad y especificidad que las mismas tienen en las diversas especies<sup>1, 13, 16, 18</sup>.

El hígado es un órgano que interviene activamente en el equilibrio homeostático. Se reconoce su participación en al menos 1.500 funciones bioquímicas

que resultan esenciales<sup>8</sup>. Interviene en los procesos digestivos (ácidos biliares), de síntesis (albúmina y factores de coagulación), desintoxicación (de amoníaco y xenobióticos), de almacenamiento (glucógeno, vitaminas A y D, oligoelementos) y del metabolismo de los carbohidratos, lípidos, proteínas y vitaminas<sup>2, 14</sup>. Es por este motivo que una enfermedad metabólica o tóxica, vascular o gastrointestinal, puede provocar valores anómalos de los análisis bioquímicos generalmente considerados como indicativos de anomalías hepáticas<sup>14, 17, 19</sup>. Como el hígado es fisiológica y anatómicamente diverso, no hay un estudio aislado que identifique en forma adecuada su enfermedad o etiología subyacente<sup>3, 14, 20</sup> y los hallazgos anamnésicos, así como la exploración física, a menudo son vagos e inespecíficos, por lo cual debe realizarse una batería de análisis para valorar el sistema hepatobiliar<sup>2, 3, 11, 12</sup>.

Los análisis bioquímicos miden la concentración sérica de enzimas liberadas por las células con daño en su membrana, reflejando la lesión hepatocelular. Las pruebas que miden la síntesis de proteínas, la producción, almacenamiento y secreción de bilis, la activación o desintoxicación de metabolitos y la homeostasis de la glucosa, se consideran pruebas de función hepática<sup>14, 19</sup>. Cuando se indica un perfil bioquímico debe tenerse en cuenta que no hay signos o anomalías de laboratorio que se observen en todos los pacientes hepatopatas por igual<sup>8, 15, 17, 20</sup>.

Estas técnicas, consideradas como no invasivas, son útiles al momento de localizar el proceso o la enfermedad en el hígado, pero insuficientes -a veces- para determinar un diagnóstico causal, el cual requiere una evaluación cito o histológica del hígado<sup>9, 12</sup>. En muchos casos la ultrasonografía o la angiografía de contraste son necesarias para el diagnóstico definitivo. Si bien los análisis clínicos ayudan a identificar claramente una lesión hepática, se necesitan otros métodos complementarios como la ecografía o la biopsia de hígado para evaluar el patrón de afectación hepática, su etiología y cronicidad de la enfermedad<sup>3, 14, 18</sup>. A pesar de los múltiples avances en técnicas de imagen no invasivas y pruebas de laboratorio para la detección de marcadores de enfermedades hepáticas, el estudio histológico de una muestra de tejido hepático continúa siendo esencial para el diagnóstico y pronóstico de la mayoría de las patologías hepáticas difusas, así como para valorar la eficacia de diferentes terapéuticas<sup>2-5, 10, 13</sup>.

La evaluación histológica o citológica del tejido hepático debe constituir parte integral de los exámenes de rutina en pacientes con enfermedad hepática<sup>9</sup>. La obtención de las muestras se puede realizar como biopsia quirúrgica por medio de agujas gruesas tipo Menghini o Tru-cut, o por medio de punción con aguja fina para la realización de citodiagnósticos<sup>6, 7</sup>. Esta última técnica es sencilla de realizar, no requiere sedación y se encuentra asociada a un mínimo riesgo<sup>12, 13, 16</sup>. Su principal desventaja radica en el pequeño tamaño de la muestra y la dificultad para muestrear lesiones focales cuando se realiza a ciegas, lo cual se soluciona con la

guía ultrasonográfica en el momento de la toma. De este modo se disminuye el riesgo de hemorragia, que es mínimo, aún cuando otros órganos sean punzados. La punción hepática percutánea con aguja fina mediante guía ecográfica no reemplaza la obtención de una porción de tejido hepático, pero es una alternativa diagnóstica viable, de muy bajo riesgo y económica, que brinda buenos resultados diagnósticos aproximativos y permite en algunos casos el diagnóstico definitivo<sup>5</sup>.

Desde un punto de vista morfológico, el hígado es un órgano intrínsecamente simple con limitado repertorio de respuestas a eventos lesivos<sup>4</sup>; independientemente de la causa, pueden verificarse cinco respuestas generales: *degeneración y depósitos intracelulares, necrosis y apoptosis, inflamación, regeneración y fibrosis*.

*Degeneración y depósitos intracelulares*: insultos tanto del tipo tóxico como inmunológico pueden causar aumento de la cantidad de agua en los hepatocitos. Este proceso es reversible mientras sea moderado y se conoce como *tumefacción*; ante daños más severos (*degeneración balonizante*) los hepatocitos presentan grandes vacuolas citoplásmicas claras. En la injuria por colestasis, el material biliar retenido imparte un aspecto espumoso difuso (*degeneración espumosa o plumosa*). Ambos procesos difieren en que este último muestra color amarillento variable del citoplasma. Sustancias como cobre y hierro también pueden acumularse en el citoplasma. La acumulación de gotitas de lípidos de diversos tamaños es conocida como *esteatosis*.

*Necrosis y apoptosis*: toda injuria significativa puede causar necrosis de los hepatocitos. En la *necrosis isquémica coagulativa* se observan células hepáticas pobremente coloreadas y con núcleo lisado. En la *muerte celular apoptótica*, hepatocitos aislados se tornan células encogidas, fuertemente eosinófilas y con núcleos fragmentados. También puede ocurrir que los hepatocitos se hinchen osmóticamente hasta romperse (*necrosis lítica*), lo que se considera consecuencia de la degeneración balonizante. En este último caso se observan detritus celulares. La necrosis generalmente muestra un patrón de distribución zonal, con mayor frecuencia de tipo centrolobulillar.

*Inflamación*: lesión hepática asociada con el aflujo de células inflamatorias agudas o crónicas. La necrosis tóxica, isquémica o directa, incita a una reacción inflamatoria. Durante las infecciones virales es común el daño directo de linfocitos citotóxicos a los hepatocitos que expresan antígenos. Las células apoptóticas son fagocitadas en pocas horas por las células de Kupffer y macrófagos circulantes. Cuerpos extraños, algunos microorganismos y drogas pueden generar reacciones granulomatosas.

*Regeneración*: los hepatocitos pertenecen al grupo de células estables con un largo período de vida, pueden proliferar en respuesta a la resección tisular o muerte celular. La regeneración ocurre en todas las enfermedades hepáticas, con excepción de las fulminantes. La proliferación hepatocelular es marcada por mitosis,

engrosamiento de los cordones de hepatocitos y desorganización del parénquima. La unidad del canal de Hering-conductillo biliar constituye el compartimiento de reserva para la restitución de la injuria parenquimatoso severa; cuando se activa, aparecen innumerables cordones serpenteantes recordando conductos biliares (reacción ductular). Cuando ocurre necrosis hepatocelular pero se mantiene intacto el estroma de tejido conectivo, es posible una restitución casi perfecta, aún en necrosis masivas o submasivas.

**Fibrosis:** el tejido fibroso se forma en respuesta a la injuria tóxica directa al hígado. A diferencia de otras respuestas, que son reversibles, la fibrosis apunta generalmente hacia el daño hepático irreversible, aunque actualmente se debate acerca de este punto. La deposición de colágeno presenta consecuencias perdurables en el flujo sanguíneo hepático y en la perfusión de los hepatocitos. La derivación final de este proceso progresivo es la cirrosis.

El presente trabajo enmarca en un proyecto cuyo objetivo es determinar la eficiencia de distintos métodos diagnósticos complementarios en la evaluación de pacientes con hepatopatías. En esta oportunidad se describen los resultados del estudio citológico de las muestras obtenidas por punción con aguja fina guiada por ecografía.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se trabajó con pacientes caninos y felinos clínicamente enfermos que concurren en forma espontánea al Hospital de Clínicas de la Facultad de Ciencias Veterinarias (Corrientes, Argentina), durante el primer semestre de 2007. Se realizó un diagnóstico clínico inicial, a cargo de profesionales del Servicio de Consultorio Clínico de Pequeños Animales. En todos los casos se efectuó un examen ecográfico en el Servicio de Diagnóstico por Imágenes, momento en el que fueron tomadas las muestras por punción.

Las muestras citológicas se procesaron en el Servicio de Diagnóstico Histopatológico y Citológico y las determinaciones hematológicas y bioquímicas (hemograma, proteínas totales, albúmina, AST, ALT, ALP, GGT y coagulograma) se efectuaron en el Servicio de Análisis Clínicos anexo a la Cátedra de Fisiología. Para cada paciente se confeccionó una ficha clínica con el detalle de los datos recabados durante el examen clínico. La mayoría de los pacientes seleccionados fueron estudiados posteriormente a la primera consulta, a los efectos de verificar su evolución.

Las punciones percutáneas se practicaron a pacientes con tiempo de coagulación normal, ubicados en decúbito supino, con una buena sujeción, sin necesidad de sedación ni anestesia. El área a examinar ecográ-

ficamente fue convenientemente preparada mediante rasurado y antisepsia. Para la punción, se utilizaron agujas descartables 50/8 que se introdujeron en un punto, siguiendo la guía ecográfica, realizando varios movimientos de introducción y retracción (acción de sacabocado). No se realizó aspiración; las jeringas de 10 ml se emplearon sólo para expeler el material colectado por las agujas, como está recomendado<sup>6</sup>.

**Citodiagnóstico:** se confeccionaron al menos ocho preparados citológicos por cada paciente. Las muestras fueron fijadas en alcohol 96° durante 5 minutos y luego cuatro de ellas (como mínimo) fueron coloreadas con Hematoxilina y Eosina (HyE). Con los vidrios de reserva se realizaron, según el caso, otras técnicas de coloración con el objetivo de favorecer el diagnóstico, como PAS y Azul de Prusia. Las muestras obtenidas fueron evaluadas y finalmente asignadas a alguna de las categorías citológicas propuestas por Kristensen *et al.*, 1990<sup>9</sup>.

## RESULTADOS

Se describen los cuadros citológicos observados en las muestras correspondientes a 22 pacientes, 20 caninos y 2 felinos. En Tabla 1 se muestra la distribución de los diagnósticos realizados.

**Procesos degenerativos y colestasis.** En los diferentes pacientes estudiados se hallaron hepatocitos

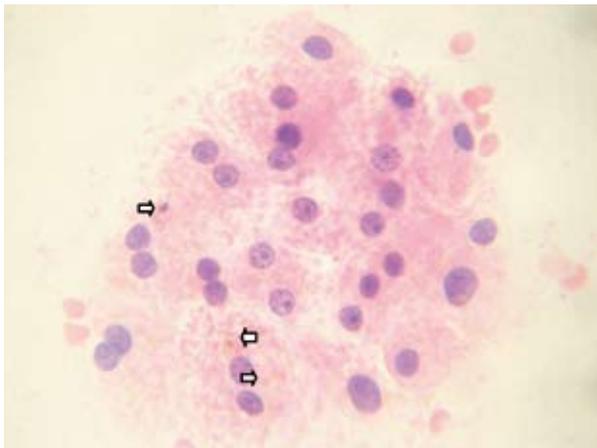
**Tabla 1.** Diagnósticos realizados

| categoria                                      | n  |
|--|----|
| esteatosis                                     | 1  |
| procesos degenerativos + colestasis            | 4  |
| colestasis                                     | 1  |
| hepatitis                                      | 7  |
| hepatitis crónica + hematopoyesis extramedular | 1  |
| hepatocarcinoma                                | 2  |
| colangiocarcinoma                              | 1  |
| linfoma  | 2  |
| metástasis                                     | 3  |
| total  | 22 |

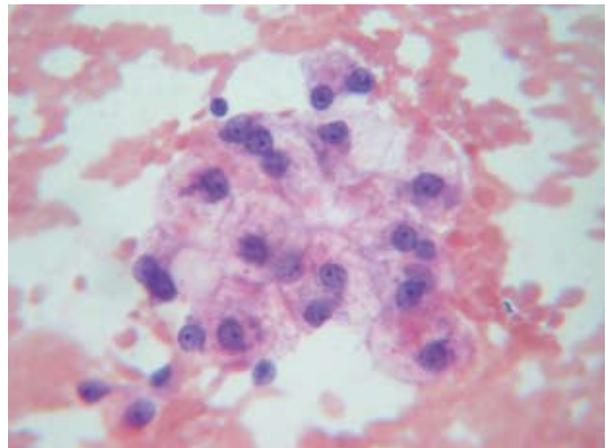
con distintos cambios citoplásmicos debidos a determinados grados de injuria celular. Las alteraciones comprendieron desde palidez irregular del citoplasma con límites celulares remarcados, aspecto tumefacto (Figuras 1 y 2) o con vacuolas imprecisas, presencia de gotitas irregulares y pequeñas en el citoplasma, hasta grandes vacuolas de límites netos que inclusive desplazaban al núcleo, presentes también en el fondo de los preparados (Figura 3). En todos los casos, excepto en un canino diagnosticado con esteatosis, se observó pigmento biliar, como pequeñas gotitas intracitoplasmáticas (Figura 1), a veces más significativas, que también se verificaron en el fondo de las muestras. En uno de los pacientes se detectó leve anisocitosis y frecuentes hepatocitos binuclea-

dos, lo que pudo haber estado relacionado con una respuesta hiperplásica ante la agresión de larga data. Un paciente felino con lipidosis hepática y marcada colestasis, mostró la presencia de ocasionales histiocitos y neutrófilos.

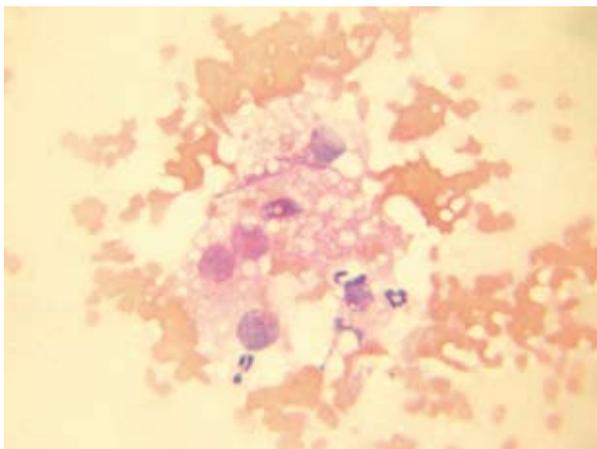
**Hepatitis.** Como en los casos anteriores, en los distintos pacientes se observaron hepatocitos con leve tumefacción, otros con degeneración balonzante, también con vacuolas lipídicas de diferentes tamaños, inclusive algunos manifestaron anisocitosis y binucleación (Figura 4). La población de células inflamatorias varió según el caso, presentándose combinaciones de neutrófilos, linfocitos, plasmocitos e histiocitos. En cuatro pacientes se detectaron abundantes células fusiformes de núcleos claros, interpretadas como proliferación de células de Ito ó miofibroblastos, lo que reflejó el avance del proceso de fibrosis (Figura 5). En uno de los pacientes se observaron células hematopoyéticas de las series eritroide, granulocítica y megacariocítica, dispersas entre las células hepáticas alteradas y las células inflamatorias descriptas.



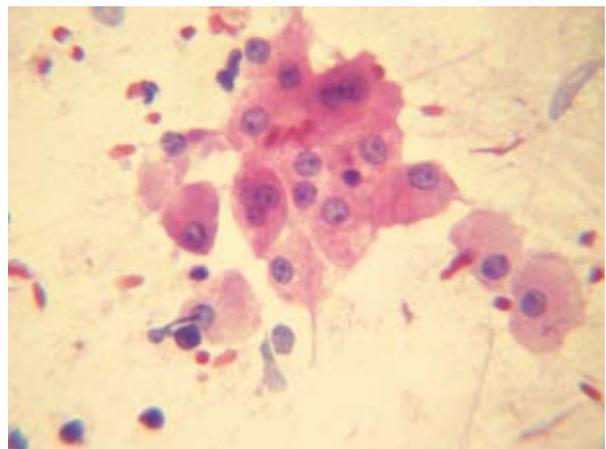
**Figura 1.** Colestasis. Los hepatocitos muestran leve tumefacción notándose la presencia de pigmento biliar (flechas). HyE, 400X.



**Figura 2.** Tumefacción balonzante. Grupo de hepatocitos con citoplasma de aspecto vesiculoso. HyE, 400X.



**Figura 3.** Hepatocitos con citoplasmas colmados de vesículas de bordes bien definidos, de diferente tamaño, que también se observan en el fondo del preparado. HyE, 400X.



**Figura 4.** Hepatitis crónica activa. Los hepatocitos muestran dos y tres núcleos, leve anisocitosis y cambios citoplásmicos degenerativos. Frecuentes linfocitos y neutrófilos. HyE, 400X.

**Neoplasias.** Ocho pacientes presentaron células con características atípicas de malignidad, entre células hepáticas con anisocitosis, binucleación y cambios citoplásmicos diversos, así como cantidades variables de neutrófilos, histiocitos y linfocitos. En los distintos casos se realizaron diagnósticos orientativos, confirmados en cinco oportunidades por histopatología.

En los *hepatocarcinomas* se observó población de células hepáticas con marcada anisocitosis y poiquilocariosis, con cromatina gruesa irregularmente distribuida y nucléolos evidentes (Figura 6). Las células neoplásicas mostraron citoplasmas de desarrollo variable, observándose la presencia de pigmento biliar amarillo verdoso.

**Colangiocarcinoma:** en este caso se observaron células carcinomatosas dispuestas en colgajos apretados, más pequeñas y regulares que las anteriores, mostrando vesículas citoplásmicas. El diagnóstico fue confirmado histopatológicamente.

En los casos de *linfomas*, las muestras citológicas mostraron población celular heterogénea con predominio de formas linfoides inmaduras entre ocasionales hepatocitos (Figura 7).

**Metástasis:** en los tres casos estudiados se hallaron colgajos de células de aspecto carcinomatoso (Figura 8). A una de las pacientes, un tiempo antes se le había extirpado un carcinoma mamario; en los otros casos no fue posible determinar su origen.

## DISCUSIÓN

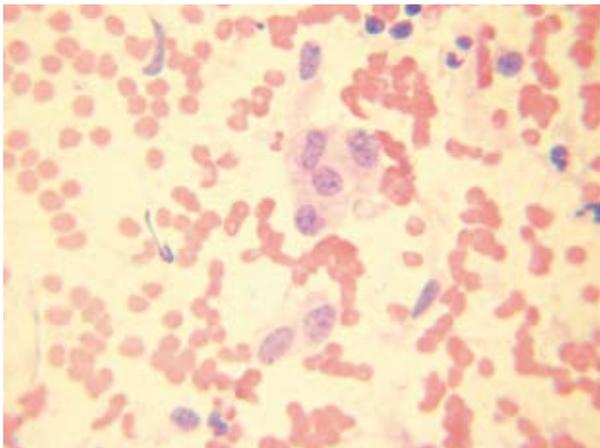
Los hallazgos aquí descritos coinciden con afirmaciones de otros autores que consideran al citodiagnóstico una técnica eficiente para la evaluación de diversas enfermedades hepáticas<sup>3, 5, 6, 9, 13, 16</sup>. En los 22 casos estudiados el citodiagnóstico permitió identificar la naturaleza de los procesos patológicos en curso, ya sea degenerativa, inflamatoria ó neoplásica.

Las muestras citológicas obtenidas por punción guiada brindaron material suficiente para la caracterización de diferentes hepatopatías. Con respecto a los procesos degenerativos, fue posible observar cambios citoplásmicos de distinto grado, así como la presencia pigmento biliar, en muchos casos concomitantes. Para la definición de procesos inflamatorios, la identifica-

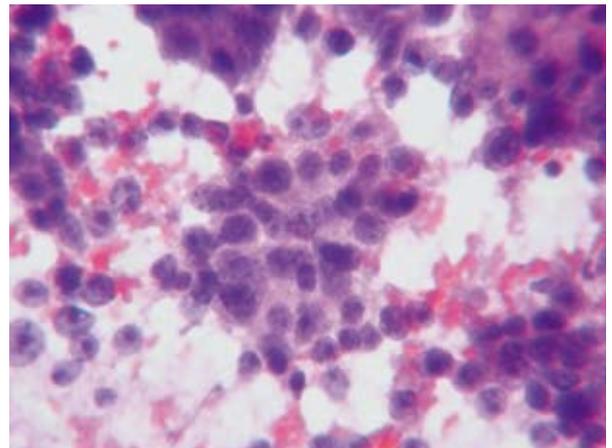
ción de los distintos leucocitos, así como la detección de miofibroblastos, junto con las características propias presentadas por los hepatocitos (tumefacción, binucleación, anisocitosis) permitió diferenciar hepatitis crónicas activas, de otros estadios evolutivos. En el caso de los tumores malignos, fue posible definir el tipo de neoplasia presente en casi todos los casos, excepto en las metástasis de adenocarcinomas en las que aún con un corte histopatológico es dificultoso determinar el origen, debiéndose recurrir a otras técnicas como la inmunohistoquímica.

La emisión de pronósticos en los casos de enfermedad hepática crónica, constituye su principal limitación, ya que no es posible observar la arquitectura tisular. De todos modos se obtienen muestras orientativas que permiten encauzar distintos tratamientos, siendo importante destacar que la técnica permite realizar sucesivos muestreos para el control de evolución de los pacientes.

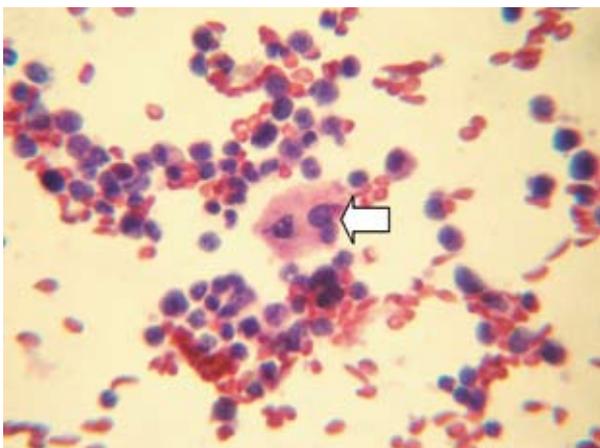
En conclusión, el estudio citológico de muestras obtenidas por punción con aguja fina guiada por ecografía, se revela como una técnica viable, práctica y



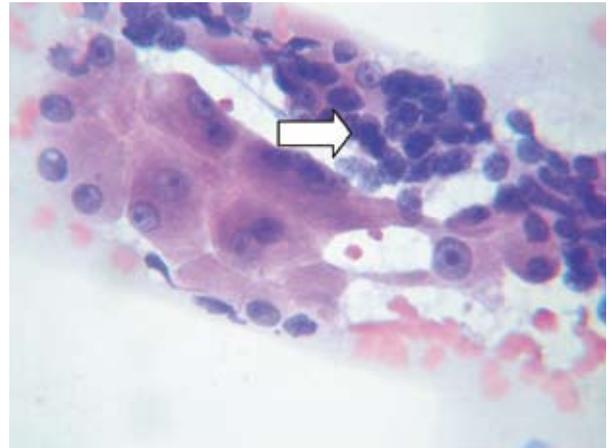
**Figura 5.** Hepatitis crónica activa. En esta imagen se presentan frecuentes células estrelladas (miofibroblastos), linfocitos e histiocitos. HyE, 400X.



**Figura 6.** Hepatocarcinoma. Células hepáticas con marcada macro y anisocariosis, nucléolos voluminosos, cromatina grumosa gruesa e irregularmente distribuida. HyE, 400X.



**Figura 7** Linfoma. Entre abundantes células linfoides anaplásicas se observan hepatocitos (flecha). HyE, 400X.



**Figura 8** Metástasis. La imagen muestra hepatocitos reactivos con anisocitosis y binucleación (flecha) entre colgajos de células carcinomatosas. HyE, 400X.

certera para el diagnóstico de las hepatopatías de pequeños animales.

## REFERENCIAS

1. **Cartee RE.** 1995. *The Liver and Gallbladder Practical Veterinary Ultrasound*, Williams & Wilkins, Philadelphia, p. 88-106.
2. **Cornelius LM.** 1993. Hepatopatías. En: *Manual de Terapéutica en Animales Pequeños* (Lorenz MD, Cornelius LM, Ferguson DC Ed.), Inter-Médica, Buenos Aires, p. 223-240.
3. **Couto G, Nelson R.** 2005. *Medicina Interna de Animales Pequeños*, 3º ed., Inter-Médica, Buenos Aires, p. 517-540.
4. **Crawford JM.** 2005. El hígado y las vías biliares. En: *Robbins y Cotran. Patología Estructural y Funcional* (Kumar V, Abbas AK, Fausto N Ed.), 7º ed., Elsevier, Madrid, p. 881-941.
5. **Duchene A, Ortemberg L, Garaventa D, Lopez VH, Vartabedian A.** 2005. Utilidad de la citología obtenida por punción con aguja fina en el diagnóstico de la hepatomegalia en caninos y felinos. *Vet Arg* 22: 632-636.
6. **Fagelman D, Chess Q.** 1990. Nonaspiration fine-needle cytology of the liver: a new technique for obtaining diagnostic samples. *Am J Roentgenol* 155: 1217-1219.
7. **Hardue E, Hagsysju-Jaeger G.** 2004. Técnicas de biopsia hepática, *Waltham Focus* 14: 36-42.
8. **Jonson SE.** 1998. Hepatopatías. En: *Tratado de Medicina Interna Veterinaria* (Ettinger SJ Ed.), Inter-Médica, Buenos Aires, p. 1621-1624.
9. **Kristensen AT, Weiss DJ, Klausner JS, Hardy RM.** 1990. Liver cytology in cases of canine and feline hepatic disease. *Comp Cont Educ* 12: 92-99.
10. **Meyer HP.** 2004. *Tratamiento de la Enfermedad Hepática en el Perro*, ECVIM Hill's Pet Nutrition, Watford, UK. On line: [www.prodivesa.com/index1.htm](http://www.prodivesa.com/index1.htm).
11. **Nyland TG.** 1995. *Ultrasonography of de Liver. Veterinary Diagnostic Ultrasound*, Saunders, Philadelphia, p. 52-72.
12. **Ortega Amoraga A.** 2000. *Ecografía y Punción Aspiración con Aguja Fina como Arma Diagnóstica*. On line: [www.prodivesa.com/index1.htm](http://www.prodivesa.com/index1.htm). ECVIM Hill's Pet Nutrition, Watford, UK.
13. **Raskin E.** 2000. Citología hepática. *Selecc Vet* 8: 512-521.
14. **Roth-Johnson L.** 2004. Evaluación *in vitro* de la enfermedad hepática. *Waltham Focus* 14: 7-11.
15. **Rutgers C, Biourge V.** 2006. Nutrition of dogs with liver disease. En: *Encyclopedia of Canine Clinical Nutrition* (Pivot P, Bioruge V, Elliott D Ed.), Aniwa, Roma, p. 134-161.
16. **Stockhaus C, Van den Ingh T, Rothuizen J, Teske E.** 2004. A multistep approach in the cytologic evaluation of liver biopsy samples of dogs with hepatic diseases. *Vet Pathol* 41: 461-470.
17. **Strombeck DR, Guilford WG.** 1995. *Enfermedades Digestivas de los Animales Pequeños*, 2º ed., Inter-Médica, Buenos Aires, p. 585-591.
18. **Szatmári V.** 2005. Ecografía hepática en perros y gatos. *Waltham Focus* 15: 2-9.
19. **Twedt DC.** 1998. Hiperactividad enzimática en el paciente senior. *Selecc Vet* 9: 4. On line: [www.seleccionesveterinarias.com/articulos/art9\\_4.htm](http://www.seleccionesveterinarias.com/articulos/art9_4.htm).
20. **Willard MD.** 2005. Afecciones gastrointestinales, pancreáticas y hepáticas. En: *Diagnóstico Clinicopatológico Práctico en los Animales Pequeños* (Willard MD, Tvedten H, Turnwald GH Ed.), Inter-Médica, Buenos Aires, p. 213-257.