

1986-2

REGISTRO 079257761

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS



PROLIFERACION CELULAR EN EL EPITELIO DEL INTESTINO DELGADO DE
Sus scrofa EN LA ETAPA PERINATAL. ESTUDIO CITOQUIMICO Y
SEMICUANTITATIVO DE LAS ESTIRPES CELULARES.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGIA

P R E S E N T A

ESTHER ALBARRAN RODRIGUEZ

A mis padres; Agustín Albarrán y Susana Rodríguez
A quienes debo todo lo que soy, con admiración y
cariño.

A mis hermanos y primo
Por su comprensión en los momentos más difíciles,
con todo mi cariño.

A mis asesores:

M. en C. Juan Mora Galindo

M. en C. Joaquín García Estrada

Por su ayuda y confianza desinteresada para mi
superación académica.

A Xochilt Calderón G.

por su asesoría y entrenamiento en el aspecto his-
tológico.

A la Universidad y Fac. de Ciencias

Por brindarme la oportunidad de realizar
una carrera profesional.

Al Dpto. de Investigación de la F.M.V.Z.

Por permitir la realización del presente trabajo.

A mis amigos del Dpto. de Investigación
por su ayuda constante y desinteresada.

A todas aquellas personas que de una u otra manera
ayudaron a la formación de esta tesis.

GRACIAS.

DIRECTOR DE TESIS:

M. EN C. JUAN MORA GALINDO.

EL PRESENTE TRABAJO FUE REALIZADO EN EL
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACION CIENTIFI-
CA DE LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINA-
RIA Y ZOOTECNIA. MODULO DE MORFOLOGIA,
BAJO LA ASESORIA DEL M. EN C. JOAQUIN -
GARCIA ESTRADA.

PROLIFERACION CELULAR EN EL EPITELIO
DEL INTESTINO DELGADO DE Sus scrofa
EN LA ETAPA PERINATAL. ESTUDIO CITO-
QUIMICO Y SEMICUANTITATIVO DE LAS -
ESTIRPES CELULARES.

I N D I C E

| CONTENIDO | PAGINA |
|-------------------------------|--------|
| Resumen | 1 |
| Introducción | 2 |
| Planteamiento del problema | 16 |
| Hipótesis | 17 |
| Objetivos | 18 |
| Materiales y Metodos | 19 |
| Resultados | 23 |
| Discusión | 45 |
| Conclusiones | 55 |
| Bibliografía | 57 |
| Carta de aceptación de tesis | 65 |
| Carta de terminación de tesis | 66 |

RESUMEN

Se estudió histológicamente el índice mitótico, densidad celular epitelial y espesor de la pared del intestino delgado de cerdos al término de la gestación y a los 2, 6, 10 y 21 días de edad, para identificar las principales modificaciones que suceden en esta etapa de vital importancia para la supervivencia de los animales.

En el estudio semicuantitativo no se encontraron diferencias en el índice mitótico de duodeno, yeyuno e ileon en una misma edad. Entre tejidos fetales, de recién nacidos y de 21 días de edad si se encontraron diferencias estadísticamente significativas a una $p < 0.05$. Las células absortivas estuvieron homogéneamente distribuidas en las zonas basal, media y apical del epitelio en las diferentes edades estudiadas. Las células caliciformes fueron más numerosas en las criptas, particularmente en tejidos fetales y de neonatos así como en animales de 6 y 10 días de edad ($p < 0.05$), la ausencia de calostro no tuvo efectos que se manifestaran estructuralmente en el intestino.

El espesor de la pared intestinal aumentó junto con la edad, excepto la mucosa, cuyo espesor máximo se encontró al nacimiento. Desde del día 6 de edad se encontraron pliegues intestinales que indican especialización funcional. Los resultados de este estudio demuestran que el Intestino delgado sufre modificaciones estructurales durante el desarrollo, debido a que su maduración está regulada en parte por factores extrínsecos, como lo es el tipo de alimento, por lo que es vulnerable a estímulos nocivos.

INTRODUCCION

La pared del tracto gastrointestinal de mamíferos está formada por cuatro capas que del exterior al lumen son: serosa, muscular, submucosa y mucosa. La primera está compuesta por tejido conectivo laxo que cubre completamente el tubo alimentario. La muscular presenta dos arreglos de músculo liso, la externa con orientación longitudinal y la interna circular, los movimientos contráctiles asincrónicos de ambas permiten la motilidad bidireccional del tracto gastrointestinal (peristaltismo); la coordinación de estos movimientos depende de la actividad nerviosa de los "plexus" mientéricos o de Auerbach que se encuentran entre estas dos capas, así como de un control endócrino (1, 2).

La submucosa se encuentra entre la muscular interna la mucosa, está formada principalmente por tejido conectivo, posee una red importante de vasos sanguíneos y linfáticos y su inervación proviene de fibras nerviosas y ganglios llamados "plexus de Meissner". Finalmente, la mucosa se subdivide en tres estructuras especializadas; a) muscular mucosa, compuesta por músculo liso de orientación longitudinal y circular escasamente desarrollado y con funciones motoras, b) lámina propia también compuesta de tejido conectivo, entre el cual están presentes vasos sanguíneos, nódulos linfáticos y fibras nerviosas y c) el revestimiento epitelial, de tipo monoestratificado cilíndrico, en contacto con el lumen. Sus características

estructurales especiales varían en relación con la edad y actividad particular de las regiones del tracto gastrointestinal (3-5).

En general, las capas descritas mantienen este arreglo en las diferentes clases de mamíferos, las variaciones más notables del tubo digestivo entre especies suceden a nivel anatómico, en cuanto a las dimensiones del estómago e intestino (6).

El cerdo doméstico Sus scrofa posee un estómago simple, su intestino delgado es relativamente largo (18.40-19.60 m) en el adulto, comparado con el de especies carnívoras; el ciego mide de 28 a 30cm y el colon de 4 a 5 m, ambos están saculados por la presencia de bandas longitudinales bien desarrolladas de músculo liso (tenias) (6, 7).

Las principales regiones en que se diferencia el canal alimentario del cerdo en sentido anteroposterior son; esófago, estómago, intestino delgado e intestino grueso. El primero presenta tanto músculo liso como estriado, la superficie luminal está revestida de epitelio estratificado escamoso y tiene una potente actividad peristáltica (8).

El estómago del cerdo es una estructura en forma oval, la mucosa es relativamente gruesa y contiene numerosas glándulas tubulares. Los tipos celulares que se encuentran en el epitelio de dichas glándulas son células mucosas

superficiales, mucosas del cuello, principales (productoras de cimogeno), parietales (secretoras de HCl) y células enteroendocrinas. Este órgano se puede dividir en diferentes regiones; cardial, esofágica, fúndica y pilórica de acuerdo a su posición anatomica (4-6).

La digestión de proteínas y lípidos se inicia en el estómago, que actúa además como un compartimento regulador en el paso del contenido alimentario hacia el duodeno, mediante su gran capacidad de dilatación (2, 8).

El inicio de las secreciones enzimáticas digestivas y sus variaciones posteriores durante el desarrollo postnatal de los lechones son de gran importancia para la supervivencia y nutrición de los animales, la mayoría de los cambios químicos que suceden durante la digestión se deben a la actividad enzimática de las glándulas asociadas al tracto gastroentérico y por la actividad de las células de la mucosa (3, 9, 10).

La concentración de enzimas no permanece estable, varía en respuesta a las características del sustrato alimenticio y edad del individuo; la amilasa salival se encuentra en niveles bajos en lechones al nacimiento, aumenta ligeramente a las 2 o 3 semanas de edad y posteriormente vuelve a sus niveles originales, sin embargo, esta es una enzima poco importante debido a que solo degrada almidón (6, 9, 11).

Desde el nacimiento las glándulas gástricas del cerdo

presentan células pépticas y parietales bien diferenciadas , sin embargo durante las primeras dos semanas de vida la actividad proteolítica gástrica es baja , esto favorece la adquisición de inmunidad pasiva de los lechones mediante la incorporación transepitelial de globulinas presentes en el calostro materno. Posteriormente los niveles de pepsina y HCl aumentan rápidamente, para la digestión proteolítica estomacal se requiere de una elevada acidez, sin embargo la hidrólisis de carbohidratos, proteínas y grasas se debe a la actividad pancreática. Las enzimas tripsina, quimiotripsina, lipasa y amilasa presentan niveles bajos hasta la cuarta semana de vida, luego sufren un incremento considerable que se relaciona con el inicio de la ingestión de alimento sólido (12, 13).

En las microvellosidades del epitelio del intestino delgado están presentes las enzimas lactasa, isomaltasa, treolasa, sacarasa y dos maltasas, la actividad de la primera se manifiesta hasta la tercera semana de vida y luego disminuye. Por el contrario las enzimas sacarosa, maltasa, e isomaltasa tienen un actividad baja al nacimiento y aumenta con la edad (12- 16).

El intestino delgado presenta una porción fija, el duodeno, y una porción móvil, dividida en yeyuno e ileon. El duodeno mide aproximadamente 60 cm y se caracteriza por la presencia de glándulas submucosas o de Brunner de tipo

mucosécretor (2, 3, 8), en este segmento desembocan los conductos biliar y pancreático por lo que las enzimas tripsinógeno, quimiotripsinógeno, carboxipeptidasas, lipasas y amilasas se mezclan con el bolo alimenticio para continuar la digestión de carbohidratos, proteínas y lípidos junto con el jugo biliar y las enzimas regionales enteroquinasas, lactasa y maltasa entre otras (6,8).

Los segmentos restantes del intestino delgado son el yeyuno e ileon, estos no muestran diferencias anatómicas entre sí ni con respecto al duodeno. El yeyuno tiene una intensa actividad de absorción del material digerido, misma que disminuye notablemente en el ileon, sin embargo algunos autores sostienen que en esta última región sucede la máxima absorción. Mediante estudios bioquímicos y fisiológicos se ha podido demostrar que existe una relación directa entre la especialización de la superficie epitelial libre y la capacidad de transporte, esto se refleja en el aspecto ultraestructural de las células absorptivas pertenecientes a estas dos regiones, las cuales muestran diferencias en la longitud y densidad de las microvellosidades (3, 6, 7).

El intestino delgado del cerdo representa aproximadamente el 70% del peso del tubo digestivo, en los primeros 10 días de vida postnatal aumenta un 80% en longitud y un 30% en diámetro, las vellosidades crecen en un 29, 50 y 75% en sus segmentos proximal, media y distal respectivamente. El incremento más importante en el

desarrollo del duodeno, yeyuno e ileon sucede al sexto día. En estudios hasta los 1200 días de edad se encontró que la aceleración principal en el desarrollo del intestino delgado sucede durante los primeros 35 días de vida, aunque tanto esta región como el intestino grueso duplican su longitud en los primeros 10 días (17, 18).

Al nacimiento, el intestino delgado del cerdo tiene una longitud de 4 m esta aumenta a 6 m a los 6 días, y a 7 m al día 10, mientras que para el intestino grueso las longitudes correspondientes a las mismas edades son de 0.8, 1.2, y 1.4 m respectivamente (17, 19).

La formación de vellosidades en la mucosa intestinal, además de las microvellosidades en las células absortivas de revestimiento permiten aumentar considerablemente la eficiencia de recambio de sustancias a través del epitelio, ya que en un espacio reducido está presente una gran extensión de superficie membranal, además en el intestino delgado se encuentran pliegues circulares de la mucosa que se proyectan hacia el lumen por lo que esta región aumenta su capacidad funcional (3, 20).

El intestino grueso tiene un arreglo estructural menos complejo. Aunque conserva la actividad mucosecretoria sus principales funciones son; incorporación de agua y minerales, además de favorecer la proliferación de bacterias anaeróbicas facultativas con capacidad fermentativa, mismas que ayudan a

completar la digestión del material que se ingiere (17, 21, 22).

RECAMBIO EPITELIAL

El revestimiento epitelial del intestino delgado presenta dos zonas bien diferenciadas, las criptas de Liberkhum y las vellosidades, las primeras son áreas de proliferación y maduración celular en las cuales se distinguen diferentes estirpes; células columnares, caliciformes o mucosecretoras, enterocromafines (que representan sólo el 0.5%), figuras mitóticas y células indiferenciadas. En el cerdo, a diferencia de otros mamíferos no existen células de Paneth (23). En las vellosidades están presentes principalmente células columnares absorptivas y caliciformes en menor proporción (24, 25).

Al examen microscópico las células columnares se distinguen fácilmente por su altura y forma cilíndrica, generalmente presentan un núcleo oval en la parte media baja y un borde estriado especializado en el extremo apical que aparece como una banda superficial con técnicas de tinción específicas para revelarlo. Estas células son las más abundantes y su principal función es la absorción de sustancias alimenticias digeridas, que se transportan desde el lumen hacia la linfa o sangre (24 - 26).

Las células caliciformes se caracterizan por tener una base angosta y un apice distendido por la presencia de

material mucinogeno, el núcleo se encuentra comprimido en la porción basal, su matriz citoplasmica es altamente densa por la acumulación de citosecreciones, por esta razón revelan una basofilia metacromática y reactividad positiva a la tinción de P.A.S., con la cual aparecen pequeños gránulos en la región supranuclear. Estas células son glándulas apócrinas simples, que secretan mucoproteínas sulfatadas para lubricar y proteger la mucosa intestinal (18, 26, 27).

Las células enterocromafines se encuentran en un porcentaje bajo y se caracterizan por tener un ápice estrecho y una base distendida con numerosos gránulos densos, el núcleo generalmente tiene posición basal. Sus funciones no se conocen con precisión, se ha sugerido que participan en la regulación neurocrina, endócrina y paracrina sobre el músculo liso intestinal, ya que contienen sustancias como 5-Hidroxitriptamina (serotonina), sustancia P, secretinas y endorfinas (28, 29).

Las mitosis solamente se producen en las células progenitoras pluripotenciales indiferenciadas que se localizan en las criptas, la mayoría de las células jóvenes emigran hacia las vellosidades donde permanecen funcionalmente activas durante un tiempo determinado, para luego desprenderse en la región apical de éstas (25, 31).

El epitelio entérico completo tiene una elevada capacidad de renovación, el proceso total incluye la

proliferación, migración, diferenciación y pérdida de las células por necrosis. El tiempo de recambio varía con la edad y la región de que se trata, en el intestino delgado del cerdo recién nacido es de 7 a 10 días, aunque algunos autores reportan una vida media celular de 19 días (18, 30). En cambio en el cerdo de tres semanas de edad el reemplazo celular ocurre en 2 o 3 días (6, 11). Entre los principales métodos empleados para estudiar el recambio epitelial están la identificación y cuantificación de figuras mitóticas y el marcaje de precursores de DNA con material radioactivo (25, 31).

Para la regulación de la duración del ciclo de recambio interviene un fenómeno de retroalimentación negativo, las células maduras secretan sustancias llamadas "chalonas" que inhiben la división mitótica y hacen más lenta la reepitelización, también participan las hormonas gastrointestinales y de otras glándulas endócrinas como pituitaria y tiroideas, así como hormonas gonadales (23, 24, 32).

Además intervienen la vitamina D, catecolamina y las características del alimento junto con otros factores extrínsecos (24, 33). Al parecer el estímulo intrínseco principal se debe a la acción de hormonas tróficas como la gastrina, enteroglucagon y de neurotransmisores como la serotonina y bombesina (34).

Entre otros factores extrínsecos que alteran la cinética

de recambio epitelial están los microorganismos patógenos; las infecciones entéricas inducen un incremento transitorio en la actividad mitótica y de migración celular, estos cambios son la respuesta tisular a la necesidad de regeneración ya que los agentes infecciosos provocan degeneración epitelial focal que se resuelve de esta manera (26, 35).

En infecciones crónicas se presentan complicaciones secundarias como el síndrome de mala absorción que se caracteriza por una atrofia de las microvellosidades y la consecuente incapacidad de transporte y aprovechamiento de los nutrientes, entre los trastornos más importantes (25, 26).

Para comprender mejor la influencia específica de los factores descritos, se han realizado diferentes estudios, como la inyección intraperitoneal de triyodotironina para aumentar el porcentaje de mitosis en el epitelio yeyunal de ratas, lo que sugiere la intervención de las hormonas tiroideas circulantes en el control de la proliferación celular intestinal. En ratas tiroidectomizadas se observó una disminución del índice mitótico en el epitelio del intestino delgado, esta condición se revertió al administrar tiroxina, en otras especies de roedores hipofisectomizados ocurrió una disminución en el número de células mitóticas después de la extirpación de esta glándula (24, 32).

Se han realizado diversos experimentos para demostrar la participación de hormonas sexuales en la regulación de la proliferación celular intestinal, cuando se suministran estrógenos a ratones se reduce la duración total del ciclo de recambio celular, en comparación con ratas ovariectomizadas; un efecto similar se produce en el intestino delgado de ratones machos cuando se suministran andrógenos (24).

IMPORTANCIA DEL TUBO GASTROINTESTINAL EN LA INMUNIDAD NEONATAL.

En el cerdo recién nacido no existen anticuerpos (Ac.) protectivos, la inmunidad pasiva se adquiere por el transporte de globulinas presentes en el calostro a través del epitelio intestinal, ya que la placenta epitelio-corial de esta especie no permite el paso de anticuerpos maternos a través de la barrera hemato-placentaria. Por esta razón, de la capacidad de absorción del intestino depende la supervivencia del lechón (36 - 39).

Durante la vida postnatal inmediata sucede la incorporación no selectiva de macromoléculas en grandes cantidades e inclusive pueden penetrar inmunoglobulinas heterólogas o materiales no biológicos como polietilenglicol. Esta circunstancia solo persiste durante las primeras 24 a 36 h después del nacimiento, posteriormente sólo puede llevarse a cabo un transporte transepitelial altamente específico y únicamente bajo condiciones patológicas en que se lesiona la

integridad epitelial pueden volver a penetrar macromoléculas, partículas virales, toxinas, restos de microorganismos bacterianos y polipéptidos que desencadenan severas respuestas inmunológicas (40- 43).

Se ha estudiado ampliamente el mecanismo de incorporación transepitelial de macromoléculas mediante métodos fisiológicos, bioquímicos y estructurales, y como resultado se han identificado los principales factores que intervienen en la regulación del fenómeno de "barrera intestinal", entre éstos se encuentran; a) edad, se relaciona con la velocidad de maduración epitelial, esto implica la sustitución de las células epiteliales con que nació el lechón y que tenían la propiedad especial de incorporación no selectiva de materiales, b) el momento en que sucede la ingestión del calostro, cuando los animales recién nacidos solamente reciben agua la elevada permeabilidad inespecífica se mantiene hasta 72 h o una semana. c) también se ha descrito la presencia de un "factor inhibidor de tripsina" en el calostro que evita la hidrólisis de Ac. en las primeras horas postnatales (36, 40, 44 -46).

Por otra parte, se han reportado diferencias en la actividad absortiva regional del intestino de lechones neonatos; algunos autores reportan que el fenómeno se presenta con mayor importancia en las regiones proximales del intestino delgado, mientras otros atribuyen particularmente

al ileon esta propiedad (47, 48).

Las principales hipótesis que se han propuesto para explicar la forma como se produce el paso irrestricto de macromoléculas propone la posible incorporación de éstas a través del espacio intercelular epitelial hasta el sistema vascular linfático o sanguíneo; así como el transporte del material intraluminal intestinal mediante la formación de vesículas endocíticas en la membrana plasmática y la subsecuente exocitosis a nivel de lámina basal. Esto requiere que el material delimitado por membrana no sea degradado por el sistema lisosomal de las células epiteliales, el cual normalmente tienen una importante actividad degradativa (41, 48, 49).

El fenómeno de "barrera intestinal" posiblemente se debe al establecimiento de los complejos de union intercelulares, así como a la presencia de sustancias del calostro inductoras de la maduración, entre los principales factores (44, 46, 50 -52).

Por todo lo anteriormente señalado, el tracto gastrointestinal del lechón es un modelo biológico de gran importancia para estudiar las profundas modificaciones que suceden en su actividad funcional, tanto por la rapidez de su desarrollo postnatal, como por las adaptaciones posteriores que se producen en respuesta al alimento, mismas que se reflejan en la duración del ciclo de recambio celular, el cual fue el motivo principal de estudio en este trabajo,

mediante la cuantificación del índice mitótico en la zona proliferativa de los tres segmentos del intestino delgado, ya que esta es una de las regiones con mayor actividad. Además se realizó un análisis semicuantitativo de las principales estirpes celulares en los segmentos descritos.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El tracto gastrointestinal del cerdo recién nacido sufre importantes modificaciones en los primeros días de vida, éstas permiten la supervivencia del animal y la posterior especialización de las estirpes celulares, por lo que resulta de gran interés estudiar la dinámica del crecimiento y renovación epitelial de este tejido que responde a la influencia de factores intraluminales, mediante cambios en su actividad enzimática y regulación en la velocidad de proliferación y diferenciación celular. Por lo que los resultados que se obtengan de este estudio permitan aumentar el conocimiento del fenómeno de renovación celular intestinal y por consiguiente la capacidad de manipularlo.

HIPOTESIS

El intestino delgado de cerdos en desarrollo sufre importantes modificaciones estructurales adaptativas: como son cambios en el índice mitótico, proporción de células epiteliales y espesor de las capas intestinales, relacionadas con la edad y que son evidentes a nivel de microscopía de luz.

OBJETIVO GENERAL

CONOCER LA ONTOGENIA CELULAR DE LAS DIFERENTES REGIONES DEL INTESTINO DELGADO DEL CERDO DURANTE LA ETAPA PERINATAL, MEDIANTE EL ESTUDIO DE SU ACTIVIDAD PROLIFERATIVA.

OBJETIVOS PARTICULARES:

Comparar el índice de división celular del duodeno, yeyuno e ileon de lechones al término de la gestación y a diferentes edades.

Establecer la variación en la proporción de las diferentes estirpes celulares del intestino delgado durante el desarrollo, mediante la aplicación de procedimientos diferenciales de citoquímica.

Realizar un estudio semicuantitativo de la actividad mitótica en las zonas proliferativas, la población de células emigrantes en fase de maduración y las estirpes residentes en las vellosidades intestinales.

Analizar las modificaciones que suceden en el espesor de las capas que componen la pared del intestino delgado de lechones, en relación con la edad.

MATERIALES Y METODOS.

Para el presente trabajo se utilizaron 17 cerdos híbridos resultantes de cruza de las razas Duroc-Hampshire, de ambos sexos y distintas edades, provenientes de diferentes madres que se criaron bajo condiciones controladas de manejo en la posta Zootécnica "Cofradía" de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad de Guadalajara.

Los primeros tres animales se obtuvieron mediante operación cesarea, aproximadamente una semana antes de la fecha esperada del parto, bajo condiciones asepticas. Un segundo grupo se formó por cuatro lechones, los cuales fueron sacrificados mediante sobredosis anestésica con eter anhidro (Baker de México S.A.), entre las 24 y 48 horas de vida, dos de estos recibieron solo leche artificial en las primeras horas después del nacimiento y los otros dos calostro en forma normal.

Dos grupos adicionales se formaron con tres animales cada uno, mismos que fueron seleccionados al azar de diferentes camadas y se sacrificaron a los días 6 y 10 respectivamente, mediante anestesia con eter. El último grupo estuvo formado por cuatro cerdos de 21 días de edad que se sacrificaron de la misma forma. Inmediatamente después del sacrificio se practicó una laparotomía media abdominal amplia para extraer el tracto gastrointestinal completo, mediante

separación desde el cardias, el segundo corte se hizo a nivel del recto y luego se obtuvo el peso y longitud de los distintos segmentos intestinales.

Para el estudio estructural se separaron tres regiones; duodeno, yeyuno e ileon, de la parte media de cada una de éstas se obtuvieron muestras de 1 cm que se lavaron en tres cambios rápidos de solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M, a pH 7.3, a temperatura ambiente y posteriormente se fijaron por inmersión en solución Bouin y Zenker-formalina durante 24 h.

Después de completar el tiempo de fijación, se eliminó el exceso de fijador mediante lavado del tejido durante 12 h con agua corriente, enseguida se deshidrataron los fragmentos de tejidos en series crecientes de etanol y se aclararon en xilol antes de incluirse en parafina. De todos los bloques se obtuvieron cortes con un espesor de 5 a 6 μm en un microtomo American Optical SL-20 .

El material se orientó en sentido longitudinal de tal forma que permitiera observar el arreglo del tubo intestinal en su mayor extensión , se utilizaron las técnicas de tinción Hematoxilina-Eosina, Feulgen y P.A.S. (53).

El análisis semicuantitativo consistió en la identificación y cuantificación de las células caliciformes, absortivas y figuras mitóticas presentes en el epitelio de revestimiento intestinal por unidad de longitud (75 μm), en la zonas apical, media y basal (Diagrama 1), mediante la

observación directa de las preparaciones en un microscopio Wild con el objetivo de 40 X y con la ayuda de un micrómetro lineal (Zeiss CPLW 10X). Este último se utilizó también para cuantificar el espesor de las capas del intestino delgado con el objetivo de 10 X .

Los resultados se analizaron mediante las pruebas estadísticas; T de Student, análisis factorial A X B, análisis de variancia aleatorio y prueba de T, que se aplicaron en esta secuencia. Se utilizó una significancia <0.05 .

De todo el material se obtuvieron fotomicrografías con un microscopio compuesto de luz marca Leitz y película Plus-X-Pan de 35 mm ASA 125, para el estudio estructural.

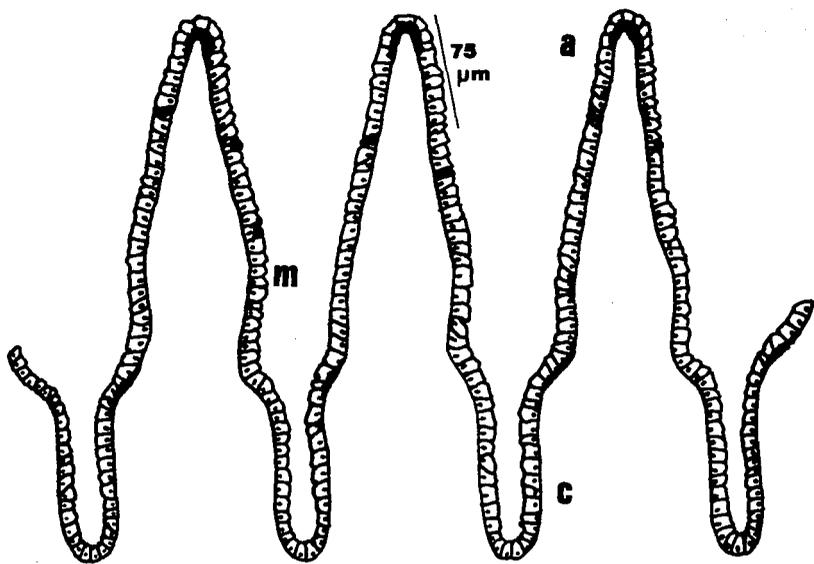


DIAGRAMA 1

Diferentes zonas cuantificadas en el epitelio del intestino delgado de lechones : apical (a), media (m) y basal o de — criptas (c) .

N° de células /75 un lineales.

RESULTADOS:

PARAMETROS MORFOMETRICOS

Se observó una relación directa entre la edad y el peso corporal de los animales estudiados con el peso y longitud del tubo digestivo a través del estudio (Cuadro 1).

El intestino delgado mostró un rápido crecimiento evidente por el aumento considerable de sus dimensiones, ya que al nacer midió 260 cm y duplicó su longitud a los 21 días de edad (521 cm.).

Al nacimiento el colon tuvo una longitud promedio de 47 cm, y de 97 cm al día 21.

Lo anterior indica el desarrollo acelerado del sistema digestivo del cerdo, sin embargo el crecimiento corporal de estos animales fue todavía mayor, ya que el peso al nacimiento se duplicó entre el sexto y décimo día de vida, a pesar de que la mayoría de los animales estudiados tenían pesos corporales inferiores al estandar establecido, por la literatura.

El peso promedio del tubo digestivo fetal fue de 19.23 g, al nacimiento este valor varió desde 28 hasta 62g, sin embargo hubo diferencias significativas en el peso corporal de los diferentes productos. A los 6, 10 y 21 días de vida el peso del tracto gastrointestinal fue de 100.83, 94.76 y 233.45 g respectivamente, este último valor difirió estadísticamente del resto.

DIFERENCIAS MORFOLOGICAS ENTRE EL INTESTINO DELGADO Y GRUESO.

El intestino delgado presentó la mayor longitud a través del estudio, en los fetos midió 155.33 cm y el intestino grueso 45.33 cm, por lo que se estableció una relación de 3:1 en cuanto al tamaño. Después del nacimiento ésta fue de 4,5:1, que se mantuvo hasta el día 21 de edad en que se hicieron las últimas mediciones y que fueron de 521 y 94 cm para el intestino delgado y grueso respectivamente.

A nivel microscópico no se observaron diferencias entre los tres segmentos del intestino delgado, por lo que se identificaron en base a su relación anatómica, sin embargo el intestino grueso se distinguió por su mayor diámetro desde el nacimiento, así como por la presencia de tenias y saculaciones en toda su longitud, éstas se distinguieron desde el día 6 de edad y a los 21 días aún se encontraron escasamente desarrolladas. El ciego se identificó fácilmente debido a su diámetro mayor que el del colon y por su posición de confluencia entre la región terminal del intestino delgado y la inicial del colon.

ESTUDIO MICROSCOPICO DE LOS COMPONENTES DE LA PARED INTESTINAL.

Desde la vida prenatal las capas de la pared intestinal se distinguieron claramente, su apariencia original se modificó con la edad, en las primeras de 24 a 48 h después

del nacimiento la pared completa reveló una organización simple, en ninguna de los tres segmentos estudiados se observaron pliegues que aumentaran la superficie de absorción de la mucosa (Figs. 1 y 3).

La mucosa del intestino delgado de los animales recién nacidos presentó el mayor espesor a través del estudio debido a la longitud de las vellosidades (Figs. 2 y 10).

A partir del día 6 de vida se observó una mayor complejidad en la pared intestinal debido a numerosos pliegues en todo el intestino delgado, algunos de estos se proyectaron considerablemente hacia el lumen intestinal (Figs. 5-9).

En los pliegues se distinguieron prolongaciones de la submucosa con numerosos vasos sanguíneos y en el extremo apical de éstos la mucosa tuvo un espesor menor que el del resto de la zona, los pliegues tuvieron una apariencia sobresaliente con la edad.

Las capas muscular y serosa presentaron pocos cambios estructurales relacionados con la edad, su aspecto fué muy parecido entre los diferentes tejidos, solamente se observó un aumento de su espesor por el desarrollo celular.

ANALISIS SEMICUANTITATIVO DEL ESPESOR DE LAS CAPAS INTESTINALES

La mucosa presentó grandes modificaciones a través del estudio; en los tejidos fetales se encontró escasamente desarrollada, su espesor promedio fuè de 391, 400 y 436 μm en duodeno, yeyuno e ileon respectivamente. Estos valores difirieron de los de animales recién nacidos ($P < 0.05$) que fueron de 882, 912 y 877 μm en las mismas regiones. A los 6, 10 y 21 días de vida postnatal se redujo el espesor de la mucosa (con vâlores que fluctuaron de 476 a 748 μm), no hubo diferencias entre estos tres grupos, pero sí con respecto a los recién nacidos. La mucosa del ileon tuvo un espesor mayor que el de duodeno y yeyuno independientemente de la edad, y su organización fue semejante a la de estos (Cuadro 2).

La submucosa tuvo un espesor menor que el de la mucosa, y solò revelò ligeras modificaciones a través del estudio y no hubo relación con la edad. En los fetos midió 58.33, 52.75 y 43.75 μm en duodeno, yeyuno e ileon respectivamente, estos valores no difirieron entre sí, ni del resto de los grupos, con excepción de muestras de 21 días de edad, en las que el espesor de esta capa fuè de 66.25, 63.12 y 63.12 μm para los tres segmentos (Cuadro 2).

La capa muscular no presentó diferencias importantes entre las 3 regiones examinadas y su espesor aumento progresivamente con la edad de los animales. En el intestino fetal el espesor promedio fuè de 72.08, 84.58 y 71.25 μm en

el duodeno, yeyuno e ileon respectivamente; las dimensiones de yeyuno difirieron significativamente de los restantes ($p < 0.05$). El espesor de esta capa en las tres regiones de lechones recién nacidos fuè mayor que el de fetos y semejante al de los grupos de 6 y 10 días, en los cuales solò se observò un aumento discreto del espesor, lo cual fuè aparente en muestras obtenidas de animales a los 21 días de edad (Cuadro 2).

El crecimiento de la serosa fuè semejante al de la muscular, se encontrò escasamente desarrollada en los fetos, y su máximo espesor correspondio a cerdos de 21 días de edad, solo hubo diferencias significativas entre fetos y recién nacidos, en los primeros el máximo desarrollo de la serosa se observò en el duodeno (Cuadro 2).

PROLIFERACION CELULAR

Para el análisis de este fenómeno se realizò un estudio semicuantitativo del índice mitòtico en los diferentes segmentos (fig 11).

Duodeno. Se encontrò una mayor actividad mitòtica en animales neonatos comparados con los los fetos, sus promedios respectivos fueron de 18.25 y 11.16 figuras mitòticas por cada 50 criptas. No hubo diferencias entre los lechones

neonatos y los grupos de 6 y 10 días; en los animales de 21 días de edad se presentó la máxima actividad mitótica (Cuadro 3, Grafica 1).

Yeyuno. No hubo diferencias en la actividad proliferativa de fetos de 104 días de edad gestacional, productos recién nacidos y de 6 y 10 días. A los 21 días se encontró la máxima actividad proliferativa que difirió significativamente de los grupos anteriores (Cuadro 3, Grafica 1).

Ileon. En este segmento se encontraron las mayores diferencias en la actividad mitótica entre los distintos grupos estudiados en relación directa con la edad. En los animales prenatales se encontró un menor índice proliferativo que en los recién nacidos, a su vez estos revelaron valores comparables a los de los productos de 6 días, estos últimos fueron significativamente diferentes de los de 10 días de edad, al igual que en los demás segmentos intestinales el máximo valor se encontró en los lechones de 21 días ($P < 0.05$), (Cuadro 3, Grafica 1).

En la mayoría de los animales estudiados pertenecientes a los distintos grupos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el número de células en división presentes en duodeno, yeyuno e ileon de individuos de la misma edad, excepto en fetos en los que el ileon presentó la menor actividad proliferativa.

ANÁLISIS SEMICUANTITATIVO DE LAS PRINCIPALES ESTIRPES CELULARES.

Además del estudio histológico se cuantificó el número de células columnares y caliciformes presentes en el intestino delgado de animales en la vida prenatal y a los 2, 6, 10 y 21 días de edad. Las células columnares mostraron su forma cilíndrica característica con un núcleo basal prominente y mayor afinidad tintoreal en el extremo apical por las microvellosidades (fig. 13).

Las células caliciformes presentaron soma esferoidal con base angosta y el extremo apical distendido por el acúmulo de material citosecretorio (mucopolisacaridos), que se distinguió claramente con la reacción de PAS, mientras que con la tinción de H-E estas células aparecieron solo como un espacio vacío en forma de gota (figs . 12 y 13).

La proporción de células columnares fue notablemente mayor que la de células mucosecretoras, en la etapa prenatal esta fue de 19 a 23 absortivas por cada célula caliciforme, mientras que los días 2, 6, 10 y 21 las relaciones promedio entre ambas estirpes presentes en las zonas apical, media y basal en la mucosa de los cuatro diferentes grupos fueron de 8-12:1, 7-8:1 y 5.5-7:1 respectivamente, sin que se encontraran diferencias respecto a la edad.

En base al análisis cuantitativo de estas dos estirpes se encontró que su densidad varía principalmente entre las

zonas cuantificadas; apical, media y criptas, independientemente del segmento estudiado, en algunos tejidos se pudieron apreciar variaciones atribuibles a la edad.

En casi todos los tejidos examinados la zona basal presentó el mayor número de células absortivas y caliciformes, sin embargo las células absortivas se encontraron en cantidades variables en las tres zonas estudiadas de una misma región sin que predominaran en alguna. La distribución de éstas también fue irregular cuando se comparó el duodeno, yeyuno e ileon de animales pertenecientes al mismo grupo, y a pesar de que se encontraron algunas diferencias relacionadas con la edad en la densidad de esta estirpe celular no fué posible identificar algun patron definido de desarrollo (Cuadro 4).

El intestino delgado fetal tuvo una menor poblaci6n de células caliciformes comparado con el de neonatos. Se encontró la mayor cantidad de estas en la zona basal, independientemente de la región y edad. También se encontraron diferencias significativas en la densidad de células caliciformes en los tejidos de animales de 6 y 10 días de vida (Cuadro 5).

A nivel de las criptas de las diferentes regiones estudiadas se distinguieron varias clases de células con el núcleo central y su citoplasma poco desarrollado, en las zonas media y apical se observaron las células columnares de mayor tamaño, particularmente en la zona apical.

CUADRO # 1

LONGITUD Y PESO DEL TRACTO GASTROINTESTINAL DE LOS LECHONES ESTUDIADOS.

| EDAD | n | PESO g | | LONGITUD cm | | |
|------|---|----------------|--------------|-------------|---------------|-------------|
| | | CORPORAL | T.G.I | ESTOMAGO | INT. DELGADO | INT. GRUESO |
| -8 | 3 | 488.63±42.84 | 19.23±0.11 | 4.16±0.28 | 155.33±14.57 | 45.33±2.51 |
| 2* | 2 | 700.00±70.71 | 28.00±3.25 | 5.25±0.35 | 260.00±14.14 | 47.50±3.53 |
| 2 | 2 | 762.50±53.03 | 62.75±3.88 | 5.00±1.41 | 251.50±24.74 | 51.00±5.65 |
| 6 | 3 | 1483.33±76.37 | 100.83±10.53 | 6.16±0.76 | 281.66±38.18 | 65.33±5.03 |
| 10 | 3 | 1583.33±600.69 | 94.76±5.00 | 5.50±0.00 | 406.33±54.88 | 92.66±8.08 |
| 21 | 4 | 3000.00±200.00 | 233.45±87.27 | 7.87±1.16 | 521.00±155.00 | 94.00±39.29 |

EL (*) indica al grupo de lechones que no recibieron calostro

n = numero de animales

T.G.I = Tracto gastrointestinal

| DUODENO | | | | | |
|---------|------------|---------------|-------------|---------------|------------|
| EDAD | CAPAS n | MUCOSA | SUBMUCOSA | MUSCULAR | SEROSA |
| -8 | 3 | 391.66±5.77 | 56.33±7.10 | 72.08±0.72 | 8.25±0.43* |
| 2* | 2 | 650.00±35.35 | 43.12±11.49 | 101.87±4.41 | 17.75±3.18 |
| 2 | 2 | 882.50±88.38 | 41.66±5.90 | 93.25±6.01 | 12.87±1.94 |
| 6 | 3 | 476.66±37.52 | 55.00±7.60 | 136.60±35.59 | 16.41±3.61 |
| 10 | 3 | 611.66±181.1 | 45.00±8.66 | 136.66±18.80 | 16.16±1.37 |
| 21 | 4 | 583.12±51.53* | 66.25±7.56 | 142.50±21.23 | 23.06±7.40 |
| YEYUNO | | | | | |
| -8 | 3 | 400.83±28.97 | 52.75±6.28 | 84.58±6.88* | 6.75±0.66 |
| 2* | 2 | 697.50±24.74 | 50.00±17.67 | 95.62±2.65 | 16.85±3.74 |
| 2 | 2 | 912.5±88.38 | 41.25±7.07 | 92.50±8.83 | 13.25±3.86 |
| 6 | 3 | 531.66±59.23 | 57.50±12.05 | 125.83±33.19 | 15.08±2.87 |
| 10 | 3 | 651.66±167.35 | 48.41±4.87 | 129.58±13.36 | 17.08±1.90 |
| 21 | 4 | 628.75±18.87* | 63.12±10.92 | 134.68±23.98 | 20.62±4.80 |
| ILEON | | | | | |
| -8 | 3 | 436.66±28.86 | 43.75±3.75* | 71.25±5.44 | 6.50±1.56 |
| 2* | 2 | 767.50±53.02 | 51.25±17.67 | 106.87±2.65 | 18.37±4.06 |
| 2 | 2 | 977.50±31.81 | 41.75±4.69 | 92.50±7.07 | 13.75±1.41 |
| 6 | 3 | 622.08±38.53* | 58.16±0.62 | 130.41±24.82 | 14.50±2.61 |
| 10 | 3 | 748.70±204.62 | 54.16±3.14 | 159.16±20.62* | 21.16±5.75 |
| 21 | 4 | 678.12±21.92* | 63.12±13.09 | 148.43±27.46 | 20.56±4.91 |

Los valores representan um.
 LDs (*) indican a los animales que no recibieron calostro.

Las literales a, b, c y d indican diferencias significativas en el espesor de las capas pertenecientes a cada segmento del intestino algado entre los diferentes grupos.
 El (*) indica diferencias significativas en el espesor de las capas duodeno, yeyuno e ileon entre animales de una misma edad. P < 0.05

CUADRO No.3 PROLIFERACION CELULAR DEL EPITELIO INTESTINAL DE LECHONES EN RELACION CON LA EDAD.

| EDAD | n | R E G I O N | | |
|------|---|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | DUODENO | Y E Y U N O | I L E O N |
| -8 | 3 | ^a 11.16 ± 0.57 | ^a 12.00 ± 1.00 | ^a 9.50 ± 1.32 |
| 2* | 2 | ^b 18.25 ± 1.06 | ^a 17.00 ± 4.24 | ^b 17.25 ± 2.42 |
| 2 | 2 | ^b 16.25 ± 1.76 | ^a 13.50 ± 2.82 | ^b 17.25 ± 3.18 |
| 6 | 3 | ^b 16.33 ± 3.32 | ^a 17.50 ± 5.26 | ^b 13.83 ± 4.80 |
| 10 | 3 | ^b 21.16 ± 1.25 | ^a 20.83 ± 5.00 | ^c 21.33 ± 4.53 |
| 21 | 4 | ^c 44.12 ± 6.57 | ^b 46.62 ± 3.35 | ^d 44.50 ± 5.49 |

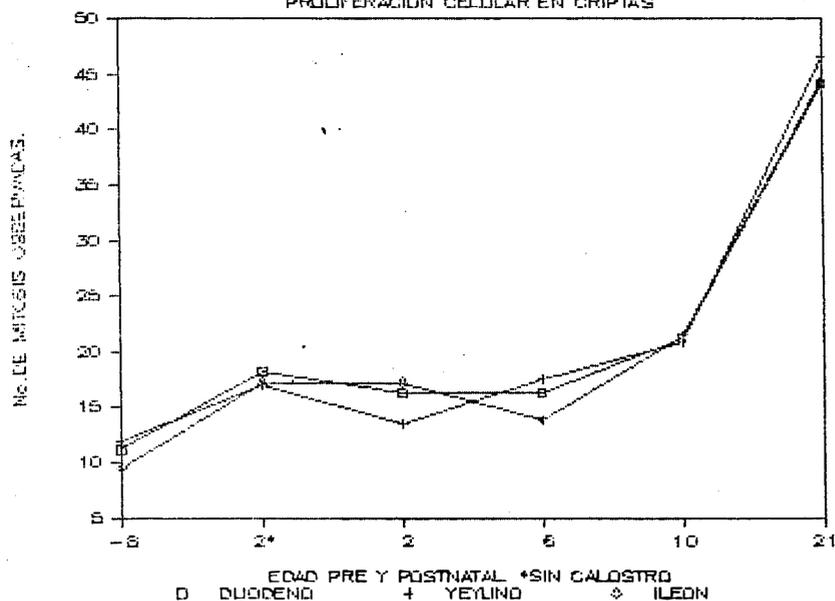
Los valores representan el numero de figuras mitoticas/50crip as tas

(*) animales que no recibieron calostro

Las literales a, b, c y d indican diferencia significativa de las tres regiones del intestino delgado a traves del estudio. p < 0.05

INDICE DE DIVISION CELULAR INTESTINAL

PROLIFERACION CELULAR EN CRIPTAS



GRAFICA No1

La presente gráfica muestra los promedios de figuras mitóticas correspondientes a duodeno, yeyuno e ileon de productos con diferente edad. El porcentaje máximo de mitosis se encontró en muestras del grupo de 21 días independientemente de la región analizada y el promedio mínimo se observó en la etapa prenatal.

CUADRO No. 4
POBLACION DE CELULAS COLUMNARES INTESTINALES CON RESPECTO A LA EDAD

| DUODENO | | | | |
|---------|---|--------------|--------------|--------------|
| ZONAS | | APICAL | MEDIA | CRIPTA |
| EDAD | n | | | |
| -8 | 3 | a 11.76±0.30 | a 11.83±0.35 | a 13.16±0.56 |
| 2* | 2 | b 11.75±0.21 | b 11.30±0.14 | b 11.10±0.56 |
| 2 | 2 | a 10.25±0.91 | b 11.20±0.14 | b 12.05±0.07 |
| 6 | 3 | b 12.03±0.37 | c 11.86±0.55 | b 11.60±0.43 |
| 10 | 3 | b 12.16±0.15 | c 12.00±0.52 | b 11.33±0.11 |
| 21 | 4 | c 11.50±0.35 | c 11.35±0.38 | c 11.77±0.39 |
| YEYUNG | | | | |
| -8 | 3 | a 11.86±0.61 | a 12.06±0.05 | a 12.66±0.32 |
| 2* | 2 | b 10.90±0.14 | b 11.35±0.21 | b 11.10±0.26 |
| 2 | 2 | b 11.10±0.14 | c 10.85±0.07 | b 11.20±0.28 |
| 6 | 3 | c 12.23±0.23 | c 11.90±0.26 | c 12.50±0.10 |
| 10 | 3 | b 12.43±0.20 | d 12.03±0.32 | d 11.70±0.10 |
| 21 | 4 | b 11.57±0.36 | d 11.72±0.16 | d 11.45±0.36 |
| ILEON | | | | |
| -8 | 3 | a 12.00±0.10 | a 12.03±0.75 | a 13.46±0.15 |
| 2* | 2 | a 12.05±0.07 | a 11.50±0.56 | b 11.15±0.35 |
| 2 | 2 | b 11.05±0.07 | a 11.25±0.07 | b 11.65±0.07 |
| 6 | 3 | c 11.70±0.17 | a 11.63±0.30 | b 11.60±0.36 |
| 10 | 3 | a 11.86±0.25 | a 11.96±0.47 | b 11.00±0.40 |
| 21 | 4 | c 11.67±0.49 | a 12.05±0.28 | b 11.52±0.28 |

Los valores representan el numero de celulas absortivas/75um.
El (*) indica a los animales que no recibieron calostro.

Con a, b, c y d se indican las diferencias observadas en una misma zona correspondiente a cada region del intestino delgado con respecto a la edad. A, B, C y D indican diferencia en la poblacion celular presente en las tres zonas y segmentos dentro de un mismo grupo de edad p < 0.05

POBLACION DE CELULAS CALCIFORMES INTESTINALES RESPECTO A LA EDAD

| DUODENO | | | | |
|---------|---|-------------|-------------|-------------|
| ZONAS | | APICAL | MEDIA | CRIPTA |
| EDAD | n | | | |
| -8 | 3 | 0.50 ± 0.10 | 0.63 ± 0.15 | 0.66 ± 0.20 |
| 2* | 2 | 1.35 ± 0.07 | 1.50 ± 0 | 2.05 ± 0.21 |
| 2 | 2 | 1.25 ± 0.07 | 1.40 ± 0 | 1.70 ± 0.42 |
| 6 | 3 | 1.00 ± 0.34 | 1.50 ± 0.26 | 1.60 ± 0.43 |
| 10 | 3 | 1.33 ± 0.28 | 1.53 ± 0.11 | 2.06 ± 0.30 |
| 21 | 4 | 1.37 ± 0.05 | 1.55 ± 0.17 | 1.92 ± 0.09 |
| YEYUNO | | | | |
| -8 | 3 | 0.53 ± 0.15 | 0.60 ± 0.17 | 0.66 ± 0.20 |
| 2* | 2 | 1.30 ± 0.28 | 1.50 ± 0 | 1.90 ± 0 |
| 2 | 2 | 1.55 ± 0.07 | 1.90 ± 0.26 | 1.65 ± 0.07 |
| 6 | 3 | 1.10 ± 0.17 | 1.50 ± 0 | 1.33 ± 0.40 |
| 10 | 3 | 1.33 ± 0.05 | 1.53 ± 0.28 | 2.10 ± 0.10 |
| 21 | 4 | 1.40 ± 0 | 1.52 ± 0.12 | 2.00 ± 0.08 |
| ILEON | | | | |
| -8 | 3 | 0.56 ± 0.11 | 0.80 ± 0.26 | 0.83 ± 0.28 |
| 2* | 2 | 1.25 ± 0.21 | 1.30 ± 0 | 2.15 ± 0.07 |
| 2 | 2 | 1.25 ± 0.07 | 1.55 ± 0.07 | 1.95 ± 0.07 |
| 6 | 3 | 1.30 ± 0.17 | 1.63 ± 0.05 | 1.90 ± 0.20 |
| 10 | 3 | 1.43 ± 0.05 | 1.56 ± 0.25 | 2.36 ± 0.32 |
| 21 | 4 | 1.40 ± 0.16 | 1.55 ± 0.26 | 2.00 ± 0 |

Los valores representan el número de células calciformes en 75 μ m.
 El (*) indica los animales que no recibieron calostro.

Las literales a, b, c y d indican diferencias significativas en la densidad celular de las zonas correspondientes al epitelio de las distintas regiones a través del estudio. Con A, B, C, D, E, F Y G se señalan diferencias en el número de células calciformes entre tejidos provenientes de animales del mismo grupo p <0.05.

FIGURA # 1

Fotomicrografia a baja amplificaci3n de un corte longitudinal de la parte media del duodeno de fetos de 104 dias de gestacion. Se distingue la capa muscular (*) y mucosa (+), as3 como numerosas vellosidades (v) con su epitelio superficial (•) en contacto con el lumen (L). Hematoxilina-eosina. 146 X.

FIGURA # 2.

Se muestra un 3rea extensa de tejido duodenal de lechones neonatos en la que se observa la capa muscular (*) ligeramente separada de la submucosa (☆) y una zona mucosa bien desarrollada (+) en la cual se distinguen las criptas (c), la zona intermedia donde se encuentran numerosas c3lulas en migraci3n (m) y el extremo apical de las vellosidades (■). P.A.S. 160 X.

FIGURA # 3

Fotomicrografia de tejidos obtenidos del ileon de fetos en la que se muestran todas las laminas que componen la pared intestinal; serosa (•), muscular (*), submucosa (☆) y mucosa (+). Se aprecia claramente la lamina propia en la base de las c3lulas epiteliales (★). P.A.S. 146 X.

FIGURA # 4.

Corte longitudinal de yeyuno de lechones de 6 dias de edad , se muestra un pliegue intestinal (—) compuesto por submucosa (+), en la que aparece el lumen de un vaso sanguineo de gran tama3o (▲) y por mucosa que muestra las zonas de las criptas (c) vellosidades (v), L = lumen Hematoxilina-eosina. 126 X.



FIGURA # 5.

Fotomicrografia de yeyuno de cerdos de 10 días de edad en la que se muestra un pliegue que revela el arreglo de las zonas de la mucosa; apical (■), media (m.) y basal o de las criptas (c) así como un espacio vascular basal (▲). Hematoxilina-eosina. 136 X.

FIGURA # 6.

Corte longitudinal del ileon de productos de 10 días en el que se señala la base de un pliegue (—), así como espacios vasculares en la submucosa (▲), V.= vellosidades intestinales, superficie visceral de la pared intestinal. (X). P.A.S. 136 X.

FIGURA # 7.

Fotomicrografia que muestra una pequeña zona del extremo apical de un pliegue duodenal de cerdos de 21 días de vida postnatal en el que se distingue la submucosa (☆) y mucosa (⊕), esta última revela varias estructuras: muscular interna (—), lamiña propia (★) y epitelio (●), además de las zonas apical de las vellosidades (■) y la zona de las criptas (c). Hematoxilina-eosina. 166 X.



FIGURA # 8

Fotomicrografía de yeyuno de lechones de 10 días en la que se hace evidente la complejidad estructural de la pared de este segmento. Están presentes las capas muscular (*), submucosa (☆) y mucosa, (⊕) de esta última se observa un arreglo transversal en que se distinguen las criptas (▽), así como una imagen longitudinal donde se distinguen numerosas vellosidades (▼) y criptas (c). Hematoxilina-eosina. 182 X.

FIGURA # 9.

Corte longitudinal del ileon de lechones de 6 días de vida postnatal correspondiente a un pliegue intestinal (—), en el cual se observa la submucosa (☆) con vasos sanguíneos de diferente diámetro (▲), así como áreas extensas de mucosa en dos diferentes planos de corte, ▼= vellosidades, (▽) corte transversal de la mucosa (⊕). Entre las láminas musculares se distingue un ganglio mioentérico (★). Hematoxilina-eosina, 186 X.

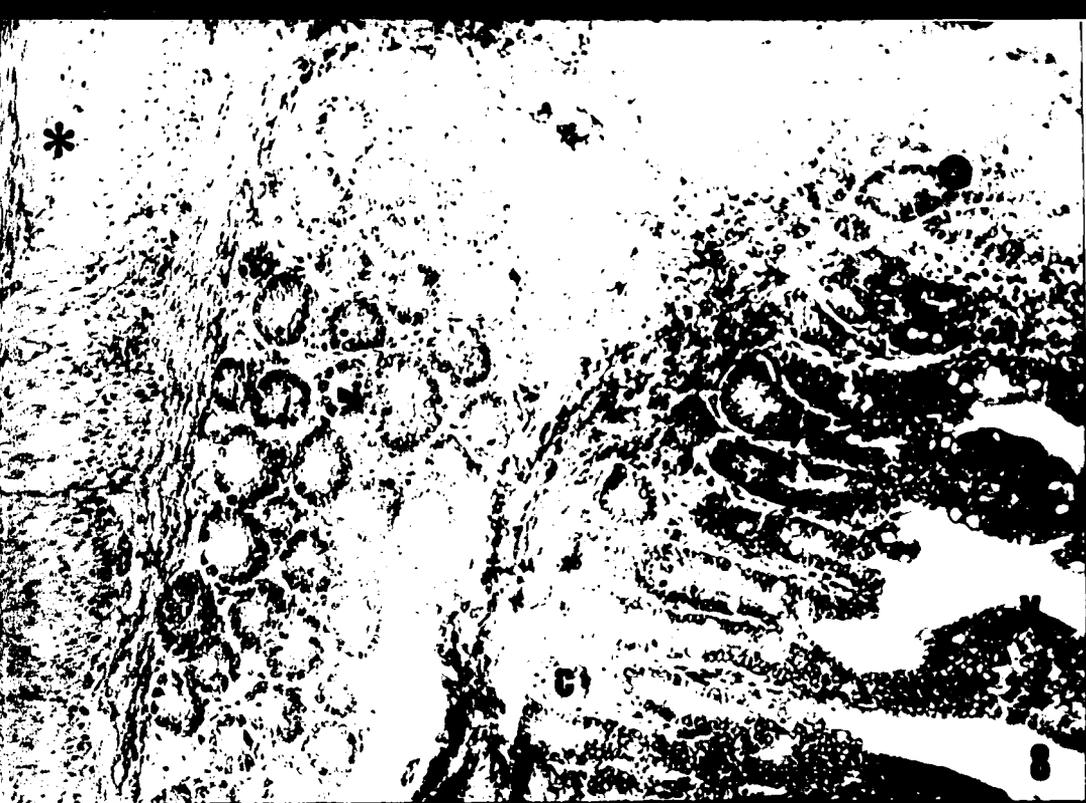


FIGURA # 10

Fotomicrografia de yeyuno de cerdos recién nacidos en la que se aprecia la lamina propia (*) y el epitelio de revestimiento intestinal (●) que recubre las vellosidades (V). Hematoxilina-eosina. 384 X.

FIGURA # 11.

Se muestra un segmento de la mucosa del ileon de cerdos de 6 días de edad a alta amplificación, en el cual se observa parte de una cripta (C) donde se encuentran numerosas figuras mitóticas (►) en diferentes fases; se señala la lámina propia (*). Hematoxilina-eosina. 1024 X.

FIGURA # 12.

Fotomicrografia del ileon de animales recién nacidos en la que se distinguen escasas células caliciformes con una afinidad tintorial elevada (→) y células columnares más abundantes (→), los núcleos de estas últimas se observan dispuestos en su base (*) a todo lo largo del epitelio. P.A.S. 480 X.

FIGURA # 13.

Se muestra una imagen microscópica a alta amplificación del duodeno de productos de 6 días de edad, en el que se distinguen células columnares absortivas en la parte apical de las vellosidades (→), así como células caliciformes (→), abundantes núcleos de células epiteliales (*) y lamina propia (*), Hematoxilina-eosina. 1024 X.



DISCUSION:

Para el presente trabajo se obtuvieron muestras de intestino de lechones que invariablemente tuvieron un peso corporal inferior al de sus compañeros de camada, esto fué debido al manejo zootécnico establecido en el centro de crianza de la "Posta Zootécnica Cofradia" de la U. de G., sin embargo estos animales reunian todas las condiciones de normalidad necesarias para desarrollar el presente estudio.

Las amplias variaciones del peso corporal de lechones de una misma camada se deben principalmente a que las cerdas liberan de 16 a 17 óvulos que se fecundan en diferentes momentos, por lo que se implantan con intervalos hasta de 40 horas, y al momento del nacimiento se encuentran animales con distintos estádios de desarrollo prenatal.

Durante la lactancia se acentúan las diferencias debido a la competencia por la obtención de alimento, por lo que al destete se pueden encontrar productos con muy bajo peso corporal que solamente tienen un retraso de horas en su maduración comparados con los restantes (55).

En nuestro estudio encontramos una gran variabilidad en el peso corporal de animales de una misma edad, particularmente en las etapas de 10 y 21 días, sin embargo los tejidos intestinales obtenidos de estos lechones no presentaron variaciones estructurales, ni en el número de células, lo que permite inferir que el retardo fué sólo del

desarrollo corporal, en base a la apariencia normal de la pared intestinal es posible inferir su integridad funcional.

Los lechones revelaron un desarrollo corporal y gastrointestinal paralelos y estos dos parámetros estuvieron directamente relacionados con la edad, independientemente de las variaciones corporales de animales del mismo grupo.

En el grupo de fetos, el peso del tracto gastrointestinal representó el 4% del peso corporal, mientras que en los grupos después del nacimiento el porcentaje fué de 6 a 8%, ya que en esta etapa se duplicó el tamaño del tubo digestivo, debido a una intensa aceleración del desarrollo postnatal (17, 19).

Para el presente trabajo se eligieron edades importantes desde el punto de vista fisiológico y morfológico en el desarrollo del tracto gastrointestinal; al término de la gestación (-8 días) cuando la pared intestinal no ha recibido influencia de factores externos; en la etapa inmediata neonatal (2 días de edad), en la cual este sistema es necesario para la adquisición de la inmunidad pasiva. Por lo que respecta a los grupos de 6 y 10 días de vida postnatal, se ha reportado en este periodo el máximo crecimiento (17, 18). En el caso del grupo de 21 días de edad los animales ya han tenido contacto con alimento sólido.

En el presente trabajo, además del análisis histológico se cuantificó el número de células en división presentes en el duodeno, yeyuno e íleon de fetos de 104 días de vida intrauterina y en productos de 2, 6, 10 y 21 días de edad y no se encontraron diferencias significativas entre muestras provenientes de animales de la misma edad. Estos resultados difieren de los reportados por otros autores que en algunos casos describen al duodeno como el segmento con el mayor índice de división celular (24), mientras que otros afirman que la mayor actividad proliferativa sucede en el íleon (56, 57).

Cuando se comparó el promedio de mitosis intestinales entre lechones de distinta edad se encontró que los animales mayores presentaron un incremento progresivo en el número de figuras mitóticas en los tres segmentos estudiados, por lo que la mayor actividad proliferativa correspondió a animales de 21 días de edad, estos resultados están de acuerdo con los de otros trabajos (24, 56, 57). Este fenómeno solamente persiste mientras los animales se encuentran en la fase de desarrollo, que finaliza alrededor de los 6 meses de vida, posteriormente se alcanza un equilibrio entre el número de células en descamación y división.

Para el estudio histológico de fragmentos representativos de los diferentes segmentos y etapas, se utilizó fijador de Bouin, que ha resultado bastante adecuado para la preservación de tejido gastrointestinal de diversas

especies con el método de inmersión, tal como se observó en nuestras laminillas. Para la identificación de estirpes celulares se emplearon las técnicas de histoquímica de Feulgen y Acido Peryódico de Shiff (P.A.S.) así como la tinción rutinaria de Hematoxilina y Eosina (H y E). La primera es específica para revelar la presencia de DNA que se encuentra altamente condensado en las células en división, sin embargo no ofreció mayor definición que las demás, por lo que la cuantificación de figuras mitóticas se hizo en las diferentes preparaciones independientemente de la tinción (53).

La información que se obtuvo con la técnica de tinción HE fué muy general e inespecífica, ya que se tiñeron de color azul intenso los núcleos celulares de todas las estirpes y el citoplasma de color rosa por su acidofilia característica, sin embargo las células absortivas se distinguieron fácilmente por su morfología típica. Esta estirpe presentó variaciones en su afinidad tintorial en relación con su posición, a nivel de las criptas el citoplasma se tiñó más intensamente que en la zona apical de las vellosidades.

Con esta técnica las células caliciformes sólo aparecieron como un espacio vacío de forma ovoide en el epitelio, por lo que se empleó la técnica de P.A.S., para revelar el elevado contenido intracitoplasmico de mucopolisacáridos de esta estirpe. También se encontraron

variaciones tintoriales en relación con las zonas analizadas, la reacción a P.A.S. fue menos intensa en las células de las criptas y mayor en las vellosidades. Estos resultados nos permiten inferir que a medida que las células emigran de las criptas hacia la zona apical, sucede una maduración funcional que se refleja en la mayor cantidad de material citosecretorio almacenado, así como por una reducción en la actividad de síntesis de proteínas (27, 24).

La edad en que encontramos la mayor densidad poblacional que identificamos de células columnares ha sido reportada en otros estudios (24 - 26), ésta estirpe representa aproximadamente el 90% de la población celular total del epitelio de revestimiento intestinal, cuando se comparó la distribución en las diferentes zonas; basal, media y apical en el epitelio de todos los tejidos examinados, no se observaron diferencias.

La segunda estirpe celular en importancia numérica según nuestros resultados y los reportados por otros autores correspondió a las células caliciformes, su mayor número se encontró en las criptas, y la menor densidad en la zona apical de las vellosidades (27).

En estudios farmacológicos con carboxalona de sodio para acelerar la reparación celular en el duodeno de ratas, se encontró el mayor porcentaje de células caliciformes en la región apical de las vellosidades, por la acción del fármaco, este aumentó la velocidad de migración de estas células, o

considerablemente su vida media en el borde luminal de la mucosa (57).

En algunos estudios se ha reportado que el número de células caliciformes aumenta progresivamente de la región proximal a la distal del intestino delgado, sin embargo en nuestro estudio no encontramos diferencias en su número entre las tres regiones del intestino delgado de animales de la misma edad. Cuando se compararon las distintas edades entre si se encontraron diferencias significativas entre fetos y crias recién nacidas, así como entre lechones de 6 y 10 días de vida posnatal (26, 57).

No se observaron diferencias entre tejidos de animales recién nacidos que ingirieron calostro dentro de las primeras 24 h, y los productos a los que solamente se les suministró agua hasta el momento del sacrificio, lo que permite suponer que la privación de calostro no alteró la citoarquitectura intestinal. En base a estos datos es posible suponer que cuando no se ingiere el calostro en las primeras 72 h de vida postnatal y como consecuencia se prolonga el período de absorción intestinal no selectiva, este fenómeno no se debe a un retardo en el desarrollo epitelial, ya que en este estudio la actividad proliferativa en los animales experimentales sin calostro fue normal por lo que para el establecimiento de la "barrera intestinal" deben influir otros factores (42, 44).

El espesor de las capas mucosa, submucosa, muscular y serosa fueron diferentes entre sí, sin embargo el espesor de cada una varío cuando se comparó el duodeno, yeyuno e ileon de los animales pertenecientes a los diferentes grupos. Con excepción de la mucosa, las demás capas del intestino incrementaron su espesor. El desarrollo de la mucosa fué diferente, en los fetos tuvo el menor espesor, aumentó al nacimiento, posteriormente se redujo en los lechones de 6 días de edad y nuevamente aumento a los 10 y 21 días.

En otros reportes se ha establecido que el espesor promedio de la mucosa de cerdos de 24 h de edad es de 1,100 μ m y de 650 μ m a los 21 días, ambos valores están de acuerdo con nuestros resultados (3, 18).

Lo anterior aparentemente sugiere una disminución en la capacidad de absorción de la mucosa a medida que los animales aumentan de edad. Sin embargo esto no sucede debido a que simultáneamente con la reducción en el espesor de la mucosa se produce un incremento en la complejidad de su organización, por la formación de pliegues que aumentan considerablemente la superficie libre de absorción de la mucosa.

A partir del grupo de lechones con 6 días de edad se encontraron numerosos pliegues intestinales que estuvieron formados por las capas submucosa y mucosa, la primera reveló una gran vascularización. Esta especialización del tejido permite una mayor eficiencia funcional que se manifiesta por

un aumento en la absorción, digestión y secreción, actividades que hacen posible el aprovechamiento de una mayor cantidad de nutrientes.

Los hallazgos principales en cortes de intestino delgado de fetos y de animales recién nacidos, correspondieron a las diferencias en el espesor de las capas de la pared intestinal. En el primer grupo el espesor de la pared completa fue menor que el de los neonatos, esta situación se hizo más evidente a nivel de la mucosa. En los tejidos fetales también se encontró el menor índice de células en división, además de una población reducida de células caliciformes, con dimensiones menores que las de animales recién nacidos.

Los resultados obtenidos en este estudio son representativos de lo que sucede en toda la extensión del intestino delgado, ya que para su estudio semicuantitativo se seleccionaron las zonas proliferativas completamente al azar en el duodeno, yeyuno e ileon y los datos se analizaron a una $p < 0.05$. Para asegurarse de que los fragmentos de tejido pertenecieran a cada uno de los tres segmentos del intestino delgado, se identificaron en base a su longitud según la etapa de desarrollo, así como por su ubicación respecto al píloro y ciego y las muestras se obtuvieron de su parte media.

Los resultados de este estudio pueden utilizarse como referencia cuando se realicen estudios microscópicos para la demostración de patologías gastroentéricas; las que tienen una elevada frecuencia de presentación durante la vida postnatal de los lechones, y que además son causa de considerables pérdidas económicas.

Por otra parte, el intestino del cerdo resulta un modelo biológico de gran importancia para el estudio experimental de sustancias que influyen sobre la velocidad de reparación del epitelio o sobre los mecanismos de transporte transepitelial, particularmente durante las primeras 72 h de vida postnatal en que no existe selectividad para la incorporación de macromoléculas. Además se ha demostrado la gran plasticidad adaptativa del tubo digestivo de esta especie, en respuesta a los ingredientes presentes en la dieta, lo que resulta un importante fenómeno de biología celular que permite estudiar el potencial genético de diversas razas especializadas para el mejor aprovechamiento de los alimentos.

No obstante lo anterior, los resultados obtenidos del intestino delgado no se pueden extrapolar al resto de las regiones intestinales, ya que poseen características fisiológicas estructurales diferentes entre sí. El intestino grueso tiene una mayor densidad de células caliciformes que el intestino delgado y su periodo de recambio celular es menor que el de este último. El estómago muestra una

población celular muy diferente al resto de las estructuras debido a su actividad funcional particular.

Nuestros datos tampoco se pueden generalizar como indicativos de lo que sucede en otros animales omnívoros, debido a que el sistema digestivo del cerdo está altamente especializado mediante selección genética para el aprovechamiento de los alimentos, lo que le permite alcanzar un peso de 100 Kg. en 6 meses a partir de 1,500 g al nacimiento. Por esta razón los tejidos son altamente responsivos a diversos estímulos exógenos, razón por la cual se puede emplear como una herramienta de estudio para experimentos con fármacos o alimentos no convencionales.

Sin embargo es recomendable continuar con el estudio de tejidos intestinales a nivel de ultraestructura para poder analizar con mayor precisión los cambios que sufren las diversas estirpes celulares durante su maduración, así como las modificaciones en la citoarquitectura completa de la pared intestinal.

CONCLUSIONES:

1 No se encontraron diferencias significativas en el número de células en división entre duodeno, yeyuno e ileon de las diferentes edades.

2 El número de figuras mitóticas aumentó en proporción directa con la edad.

3 La densidad numérica de células columnares fue semejante en la mayoría de las muestras examinadas independientemente de la zona, región y edad estudiadas. Se encontró una cantidad promedio de 11 células/75µm lineales.

4 Las células caliciformes mostraron un patrón de distribución irregular en las criptas, zona media y apical de las vellosidades. La mayor cantidad se observó en las primeras, y disminuyó en dirección a la parte apical de las vellosidades. En tejidos de fetos se encontró la menor población (0.60/75 µm) y después del nacimiento la mayor concentración de estas células fue de 2/75µm lineales.

5 La proporción que mantuvieron las células absortivas y caliciformes fue de aproximadamente 23:1 antes del nacimiento y de 6-12:1 en la etapa postnatal.

6 El espesor de la serosa, muscular y submucosa aumentó con la edad, la mucosa presentó su máximo espesor en los tejidos de animales neonatos, y este después disminuyó moderadamente con la edad.

7 La complejidad en la organización estructural de los elementos presentes en la pared intestinal se apreció a partir del grupo de 6 días de vida, se manifestó por la aparición de numerosos pliegues intestinales.

BIBLIOGRAFIA:

- 1.- Schofield, G.C. 1968. Anatomy of muscular and neural tissues in the alimentary canal. Handbook of physiology American. Physiology Society. Washington, D.C. 4; Sect 6; p 1579.
- 2.- Ganong, W.F. 1985. Gastrointestinal Function. Review of Medical Physiology. Lange Medical Publication. Los Altos, California. Twelfth edition; p 384.
- 3.- Figueredo, M.A. 1979. Algunos aspectos histológicos del TGI del cerdo y su relación con los procesos digestivos. Centro de Investigaciones Porcinas. La Habana. E.I.D.A.; - p 5.
- 4.- Ham, W.A. ; Cormach, H.D. 1979. The digestive system. Histology. J. Lippincott Company. Eighth edition; p 645.
- 5.- Weiss, L.; Greep, O.R. 1977. The digestive tract. Histology. MacGraw Hill Book Company. Fourth edition; - p 643.
- 6.- Argenzio, R.A. 1984. Digestion, absorption and metabolism. Dukes Physiology of domestic animal. Vail-Balloy Press. U.S.A. Tenth edition; p 262.
- 7.- Marshall, P.T. ; Hunnes, G.M. 1980. Digestion physiology of mammals and other vertebrates. Cambridge University Press. Second edition; p 33.

- 8.- Petrosyan, F.R. ; Shubin, V.A. Histology and histochemical aspects of the mucous membrane of the esophageal and cardiac parts of the stomach of pig. Nutr. Abstr. R. B. 49: 1898, 1977.
- 9.- Manner, D.W. ; Stevens, J.A. Recent advances on absorption and digestion in pigs. Br. J. Nutr. 28: 113, 1972.
- 10.- Low, G.A. Nutrient absorption in pigs. J. Sci. Food Agric. 31:1087, 1980.
- 11.- Sambook, I.E. Studies on digestion and absorption in the intestines of growing pigs. 7. Measurements of the flow of total carbohydrate, total reducing substances and glucose. Br. J. Nutr. 42: 267, 1979.
- 12.- Argenzio, A.R. 1984. Digestion and absorption of carbohydrate, fat, and protein. Dukes Physiology of Domestic Animals. Vail-Balloy Press. Tenth edition; - p 301.
- 13.- Low, A.G. The activity of pepsin, chymotrypsin and trypsin during 24h in the small intestine growing pigs. Br. J. Nutr. 48: 147, 1982.
- 14.- Manners, M.J. Symposium on "Quantitative aspects of pig nutrition" The development of digestive function in the pig. Proc. Nutr. Soc. 35: 49, 1976.
- 15.- Morin, L.C.; Ling, V.; Bourassa, D. Small intestinal and colonic changes induced by a chemical defined diet. Dig. Dis. Sci. 25:123, 1980.

- 16.- Michel,R.H.; Coleman,R.; Lewis,B.A. Biochemical differentiation of the plasma membrane of the intestinal epithelial cell. *Biochem. Soc. Trans.* 4: 10, 1976.
- 17.- Jarvis,L.G.; Morgan,G. ; Smith,M.W. Cell replacement and changing transport function in the neonatal pig colon. *J. Physiol.* 273: 717, 1977.
- 18.- Smith,M.W. ; Jarvis,L.G. Growth and cell replacement in the new-born pig intestine. *Proc. R. Soc. Lon.* 203: 69, 1978.
- 19.- McCance,R.A. The effect of age on the weights on lengths of pigs intestines. *J. Anat.* 117: 475, 1974.
- 20.- Holmes,J.H.G.; Bayley,H.S.; Leadbeater,P.A. Digestion of protein in small and large intestine of the pig. *Br. J. Nutr.* 32:479, 1974.
- 21.- Low,G.A. Digestibility at several intestinal sites in pigs. *Proc. Nutr. Soc.* 36: 89, 1977.
- 22.- Wooding,F.B.P.; Smith,M.W.; Craig,H. The ultrastructure of the neonatal pig colon. *Am. J. Anat.* 152: 269, 1978.
- 23.- Creame,B. Intestinal structure in relation to absorption *Biomembranes* 4A: 1, 1974.
- 24.- Sassier,P. ; Bergeron,M. Cellular changes in the small intestine epithelium in the course of cell proliferation and maturation. *Subcell. Biochem.* 5: 129, 1978.
- 25.- Gregory,L. ; Eastwood,M.D. Gastrointestinal epithelial renewal. *Gastroenterology* 72: 962, 1977.

- 26.- Toner, G.P. Cytology of intestinal epithelial cells. *Int. Rev. Cytol.* 24: 233, 1968.
- 27.- Troughton, D.W.; Trier, J.S. Paneth and goblet cell renewal in mouse duodenal crypts. *J. Cell. Biol.* 41: 251, 1969.
- 28.- Inokuchi, H.; Kawai, K.; Takeuchi, Y.; Sano, Y. Immunohistochemical study on the morphology of enterochromaffin cells in the human fundic mucosa. *Cell Tissue Res.* 235: 703, 1984.
- 29.- Wade, P.R.; Westfall, J.A. Ultrastructure of -- enterochromaffin cells and associated neural and vascular elements in the mouse duodenum. *Cell Tissue Res.* 241: 557, 1985.
- 30.- Stevens, H.C.E. Cell turnover in epithelial population. *J. Histochem. Cytochem.* 4: 531, 1956.
- 31.- Yeomans, D.N.; Trier, J.H. Epithelial cell proliferation and migration in the developing rat gastric mucosa. *Dev. Biol.* 53: 206, 1976.
- 32.- Tutton, P.J.M. The influence of thyroidectomy and of triiodothyronine administration on epithelial cell proliferation in the jejunal of rat. *Virchows. Arch. B. Cell. Path.* 20: 139, 1976.
- 33.- Leary, H.L.Jr.; Lecfe, J.G. Uptake of macromolecules by enterocyte on transposed and isolated piglet small intestine. *J. Nutr.* 106: 419, 1976.

- 34.- Bishop, A.E.; Ferri, G.L.; Probert, L.; Blomm, S.R.; Polak, J.M. Peptidergic nerves. Scand. J. Gastroenterol. 17: 43, 1982.
- 35.- Kirchner, F.R.; Bybee, J.W.; Osborne, J.W. The influence of rat age on crypt cell kinetics after partial resection of the small intestine. Proc. R. Soc. Exp. Biol. Med. 157: 572, 1978.
- 36.- Murata, H.; Namioka, S. The duration of colostrum immunoglobulins uptake by the epithelium of the small intestine of neonatal piglets. J. Comp. Path. 87: 431, 1977.
- 37.- Ojofeitini, E.O.; Elegbe, I.A. The effect of early initiation of colostrum feeding on proliferation of intestinal bacteria in neonates. Clin. Pediatr. 21: 39, 1982.
- 38.- Szeky, A.; Ratz, F.; Tuboly, S.; Nagy, Gy. Absorption of colostrum immunoglobulins in suckling piglets. Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung. 26: 99, 1979.
- 39.- Montaraz, C.A.; Pijoan, A.C. Inmunidad en el tracto gastrointestinal. Ciencias agropecuarias 11: 3, 1982.
- 40.- Westrom, B.; Svendsen, J.; Tagesson, C. Intestinal permeability to polyethylenglycol 600 in relation to macromolecular "closure" in the neonatal pig. Gut 25: 520, 1984.

- 41.- Michael, L. ; Gardner, G. Evidences, and implications of passage of intact peptides across the intestinal mucosa. Biochem. Society. Trans. 11: 810, 1983.
- 42.- Murata, H., Yaguchi, H. ; Namioka, S. Relationship between the intestinal permeability to macromolecule and invasion of septicemia inducing E. coli in neonatal piglets. Infect. Immun. 76: 339, 1979.
- 43.- Staley, T.E. Absorption of horseradish peroxidase by neonatal pig intestinal epithelium; effect of E.coli(O55B5). Am. J. Vet. Res. 38: 1307, 1977.
- 44.- Udall, J.N.; Colony, P.; Fritze, K.; Pang, J.; Trier, S. ; Walker, W.A. Development of gastrointestinal mucosal barrier. II The effect of natural versus artificial feedings on intestinal permeability to macromolecules. Pediatr. Res. 15: 245, 1981.
- 45.- Harvey, L.; Learly, J.L. ; Lecce, J.G. The preferential transport of immunoglobulin G by the small intestine of the neonatal piglet . J. Nutr. 109: 458, 1979.
- 46.- Carlsson, L.C.T.; Westrom, B.R. ; Karlsson, B.W. Intestinal absorption of proteins by the neonatal piglet fed on sow colostrum with either natural or experimentally eliminated tripsin-inhibiting activity. Biol. Neon. 38: 309, 1980.
- 47.- Morris, B. ; Morris, R. The digestion and transmission of labelled immunoglobulin "G" by enterocytes of the

- proximal and distal region of the small intestine of young rats. *J. Physiol.* 273: 427, 1977.
- 48.- Burton, K.A.; Smith, M.W. Endocytosis and immunoglobulin transport across the small intestine of the new-born pig. *J. Physiol.* 270:7473, 1977.
- 49.- Griego, R.; Wofsy, C.; Echavarria, H. Modelos matemáticos para la internación celular de proteínas. *Ciencia* 37: 43, 1986.
- 50.- Warshaw, A.L.; Bellini, C.A.; Walker, W.A. The intestinal mucosal barrier to intact antigenic protein difference between colon and small intestine. *Am. J. Surgery* 133: 55, 1977.
- 51.- Luciano, J.; Reale, E.; Rechkemmer, G.; Engelhardt, W. - Structure of zonulae occludentes and the permeability of the epithelium to short-chain fatty acids in the proximal and distal colon of guinea pig. *J. Membrane Biol.* 82: 145, 1984.
- 52.- Mora, G.J. Maturation of tight junctions in guinea-pig cecal epithelium. *Cell Tissue Res.* 246: 169, 1986.
- 53.- Luna, G.L. (1968). Manual of histologic staining methods of Armed forces institute of Pathology. McGraw-Hill. New York. Third edition. p 12.
- 54.- Stabenfeldt, H.G.; Edquist, E.L. (1984). Female reproductive processes. *Duke's Physiology of Domestic Animal*. Cornell University press. Tenth edition. p 798.

- 55.- Leblond, C.P.; Stevens, C.E. The constant renewal of the intestinal epithelium in the albino rat. *Anat. Rec.* 100: 357, 1948.
- 56.- McMinn, H.M. The rate of renewal of intestinal epithelium in the cat. *J. Anat.* 86: 527, 1954.
- 57.- Gottfried, S.; Vine, R.S.; Wan, Y.C. A quantitative - morphological study of the effects of carbenoxolone sodium on duodenal goblet-cells of rat. *Gen. Pharmac.* 16: 297, 1985.



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
Facultad de Ciencias

Expediente

Número 774/86

Srita. Esther Albarrán Rodríguez
 Presente. -

Manifiesto a usted que con esta fecha ha sido aprctado el tema de Tesis "Proliferación celular en el epitelio del intestino del gado de Sus scrofa en la etapa perinatal Estudio citoquímico y semi cuantitativo de las estirpes presentes" para obtener la Licenciatura en Biología con Orientación Biomédica.

Al mismo tiempo informo a usted que ha sido aceptado como Director de dicha Tesis al M. er. C. Juan Mora Galindo.



FAACULTAD DE CIENCIAS

ATENTAMENTE
 "PIENSA Y TRAJA"
 Guadalajara, Jal., Agosto 2 de 1986

El Director
 Dr. Carlos Astengo Osuna

El Secretario
 Copeland.
 Dr. José Manuel Copeland Gurdíel.

c.c.p. El M. en C. Juan Mora Galindo, Director de Tesis.-pte.
 c.c.p. El expediente de la alumna.

'mjsd

BOULEVARD A TLAQUEPAQUE Y CORREGIDORA, S. E.,
 GUADALAJARA, JAL.

TELEFONOS 17-58-29 Y 17-48-17

Al contestar este ofido sírvase dñar fecha y número

Julio 16 de 1987.

DR. CARLOS ASTENGO OSUNA.
Director de la Facultad de Ciencias
Universidad de Guadalajara
P r e s e n t e.

Estimado doctor Astengo Osuna:

Por este medio comunico a usted que la señorita ESTHER ALBARRAN RODRIGUEZ, pasante de la Licenciatura en Biología con número de registro 079257761 ha concluido satisfactoriamente el trabajo de tesis titulada: Proliferación Celular en el Epitelio del Intestino Delgado de Sus scrofa en la etapa perinatal. Estudio citoquímico y semicuantitativo de las estirpes celulares, realizado en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Asimismo le informo que he revisado el manuscrito de la tesis y considero que cumple con los requisitos establecidos por la Facultad a su digno cargo.

Sin más por el momento, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente,


M. EN C. JUAN MORA GALINDO
Director de Tesis.