

Características histoquímicas de la mucosa intestinal de la rata hembra durante el primer año de vida

Leticia Ramírez Martínez*
Angélica González Maciel*
Joaquín Cravioto*

Resumen

Se estudió el intestino delgado y grueso de 69 ratas de la cepa Wistar, de 1 a 360 días de edad, con el objetivo de conocer las características histoquímicas de las mucinas intestinales de la rata hembra, así como su distribución en condiciones normales. Se colectaron muestras de tejido de 2 cm de la parte media de duodeno, yeyuno, íleon, colon y recto. Se procesaron para su inclusión en parafina realizando cortes transversales de 5 micrómetros de grosor. Las técnicas de tinción utilizadas fueron: ácido peryódico de Schiff (PAS), azul alciano a pH 2.5 y fucsina-aldehído para determinar la presencia de mucinas. Se encontró que las mucinas de las vellosidades y criptas del intestino delgado son ácidas, neutras y mezcla de ambas en los primeros 28 días de edad; a edades posteriores, hasta 360 días, las mucinas neutras se limitan a las criptas intestinales. En el intestino grueso, en las edades estudiadas, se encontraron mucinas ácidas débilmente sulfatadas en la base de la cripta, mezcla de mucinas y ocasionalmente neutras en la zona apical de la cripta.

En las primeras etapas del desarrollo de la rata hembra, predominan mucinas neutras y en adultos mucinas ácidas; esto es semejante a lo descrito en la rata macho en estas mismas etapas, lo que demuestra que las condiciones hormonales cíclicas de la hembra no influyen en las características histoquímicas del intestino.

Introducción

Las células caliciformes del epitelio intestinal se caracterizan por secretar mucinas (glucoproteínas) que al hidratarse forman una sustancia lubricante denominada moco; estas mucinas pueden actuar como barreras mecánicas⁴ contra agentes nocivos o facilitar la expulsión de microorganismos.¹⁸

Por su composición química las mucinas se clasifican en: neutras, ácidas, o una mezcla de ambas. Las mucinas

neutras contienen unidades de hexosamina y hexosa, y las mucinas ácidas unidades de hexosamina asociadas con ácido glucurónico, idurónico o siálico; también pueden tener radicales sulfato y ser detectados por métodos histoquímicos.³

La composición de la mucina secretada puede ser modificada por factores como: edad,⁹ deficiencias nutricionales,¹⁰ enfermedades neoplásicas,⁸ bacterianas y parasitarias;^{4, 18} por ello, es importante conocer su naturaleza histoquímica y distribución en condiciones normales, ya que estos datos pueden ser utilizados como control para estudios posteriores que empleen a la rata hembra como modelo biológico.

En investigaciones sobre la histoquímica de la mucosa del aparato digestivo se usa casi siempre a la rata macho; la hembra no se considera adecuada para estos estudios debido a que está sujeta a influencias hormonales cíclicas.¹³ Esto ha dado pie a suponer que la rata hembra presenta un patrón de secreción, naturaleza y distribución de mucinas diferente al del macho.

El objetivo del presente trabajo es determinar la distribución y características histoquímicas de las células caliciformes de la mucosa intestinal de la rata hembra, así como conocer las diferencias que existen en relación con el macho.

Material y métodos

Se estudió un total de 69 ratas hembra de la cepa Wistar, mantenidas en condiciones convencionales. Se distribuyeron en 23 grupos de tres ratas hembra cada uno; las edades estudiadas fueron: 1, 3, 7, 10, 15, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77, 84, 91, 120, 180, 210, 240, 300 y 360 días.

Los animales fueron anestesiados con éter, posteriormente se realizó la perfusión intracardiaca con una solución de formalina amortiguada a un pH de 7.3. Se colectaron muestras de aproximadamente 2 cm de la parte media de duodeno, yeyuno, íleon, colon y recto; se fijaron por inmersión en formol al 10% durante un mínimo de 24 horas y se procesaron para su inclusión en parafina. Se realizaron cortes transversales de 5 micrómetros de grosor y se tiñeron mediante técnicas de tinción histoquímicas de PAS-azul alciano pH 2.5

Recibido para su publicación el 15 de diciembre de 1992

* Unidad de Investigación en Salud Infantil. Instituto Nacional de Pediatría SSA. Av. Insurgentes Sur 3700. Col. Insurgentes Cuicuilco. Deleg. Coyoacán. 04530, México, D.F.

con el fin de demostrar el tipo de mucinas presentes y con la técnica fucsina-aldehído, para determinar el grado de sulfatación de las mucinas ácidas.

Resultados

En los primeros 28 días de edad se observaron en el intestino delgado mucinas neutras, ácidas y una mezcla de ambas en las células caliciformes de vellosidades y criptas (Figura 1). En las siguientes edades, se observaron mucinas ácidas y mezcla de mucinas (Cuadro 1) en estas estructuras. Las mucinas neutras se restringieron a la base de las criptas a los 360 días de edad.

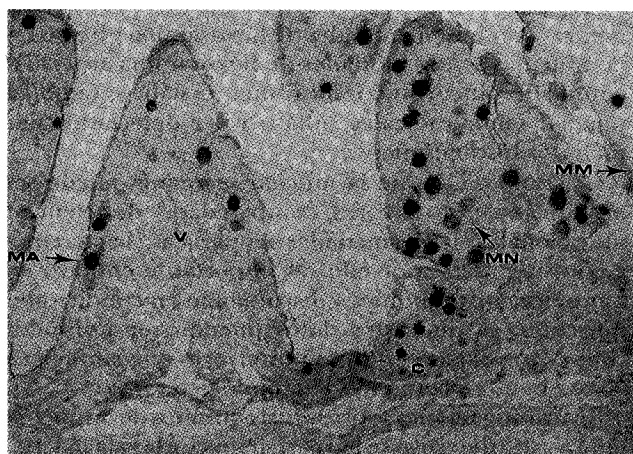


Figura 1. Duodeno de rata hembra de 15 días de edad. En las vellosidades (V) y criptas (C) intestinales se observan mucinas ácidas (MA), mezcla de mucinas (MM) y neutras (MN). Tinción PAS-azul alciano pH 2.5 (x 100.8)

Las mucinas ácidas presentaron una reacción débil de sulfatación.

En colon y recto de todas las edades estudiadas, las células caliciformes presentaron mucinas ácidas débilmente sulfatadas (Cuadro 1), en la base de la cripta mezcla de mucinas y ocasionalmente neutras en la zona apical de la cripta (Figuras 2 y 3).

En animales menores de 15 días y en algunos de 28 días, se observaron estructuras citoplasmáticas en las células enterocíticas de duodeno, yeyuno e íleon, con una reacción ligeramente PAS positiva.¹⁴

Discusión

Los trabajos histoquímicos del intestino generalmente se enfocan a estudiar los cambios estructurales presentados en condiciones patológicas, experimentales, o a nivel bioquímico,^{8, 10, 11, 12, 15} limitándose sólo a estudiar una etapa de la vida en el ser humano o en animales de laboratorio.

Se informa de la presencia de mucinas neutras y ácidas en el intestino humano. Las primeras se han encontrado en diferentes estadios del desarrollo embrionario y las segundas en la vida posnatal, lo cual se asemeja a lo encontrado en la rata. Esto sugiere un proceso de maduración fetal en el ser humano, análogo al que se presenta en el intestino de ratas durante el desarrollo posnatal.⁹ Los resultados del presente trabajo muestran que en las primeras etapas del desarrollo de la rata hembra predominan mucinas neutras y en adultos ácidas, esto es, semejante a lo descrito para la rata macho en estas mismas etapas.²² Lo anterior de-

Cuadro 1
TIPOS DE MUCINAS PRESENTES EN EL INTESTINO DE LA RATA WISTAR HEMBRA, A DIFERENTES EDADES

Región del Intestino Tipo de mucinas	Duodeno			Yeyuno			Íleon			Colon			Recto		
	N	A	MM	N	A	MM	N	A	MM	N	MM	ADS	N	MM	ADS
Edad (días)															
1	2	—	—	2	—	—	2	—	—	—	1	2	—	1	2
7	2	—	—	2	—	—	2	—	—	—	1	2	—	1	2
15	2	—	—	2	—	—	2	—	—	—	1	2	—	1	2
28	2	—	—	2	—	—	2	—	—	—	1	2	—	1	2
42	—	2	1	—	2	1	—	2	1	—	1	2	—	1	2
56	—	2	1	—	2	1	—	2	1	—	1	2	—	1	2
70	—	2	1	—	2	1	—	2	1	—	1	2	—	1	2
84	—	2	1	—	2	1	—	2	1	—	1	2	—	1	2
120	—	2	1	—	2	1	—	2	1	—	1	2	—	1	2
180	—	2	1	—	2	1	—	2	1	—	1	2	—	1	2
240	—	2	1	—	2	1	—	2	1	—	1	2	—	1	2
360	—	2	1	—	2	1	—	2	1	—	1	2	—	1	2

N = Neutras

A = Ácidas

MM = Mezcla de mucinas

ADS = Ácidas débilmente sulfatadas

Presencia mínima = —

Moderada = 1

Muy evidente = 2

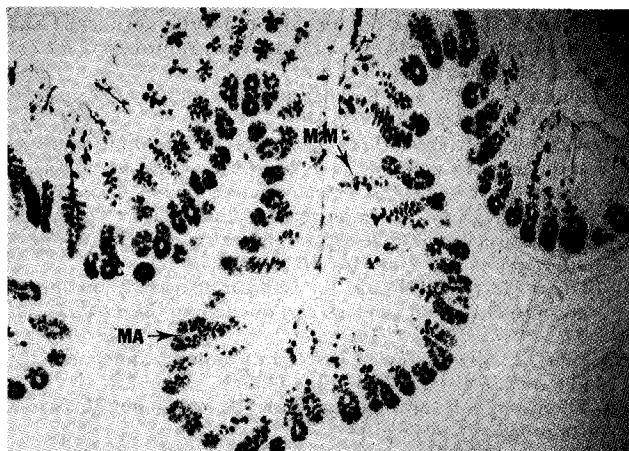


Figura 2. Recto de rata hembra de 70 días de edad. En las criptas (C) intestinales se observaron mucinas ácidas (MA) débilmente sulfatadas. Mezcla de mucinas (MM). Tinción PAS-azul alciano pH 2.5 (x 200)

muestra que las condiciones hormonales cíclicas en la hembra no influyen en las características histoquímicas del intestino.

El cambio de las propiedades histoquímicas de las mucinas en relación con la edad, probablemente dependa de condiciones microambientales que imperan en las distintas regiones del intestino,^{1, 2, 5, 16} como la

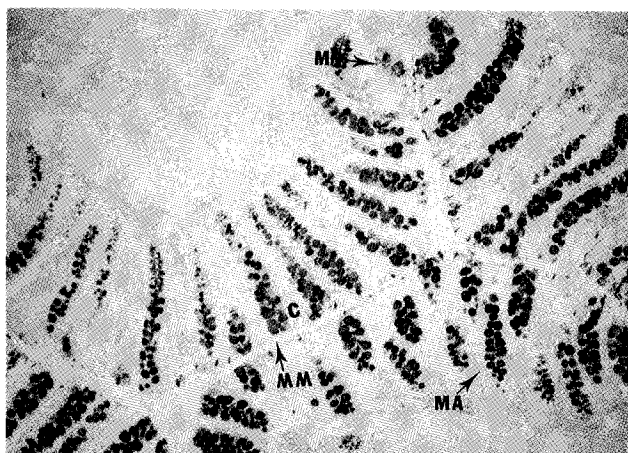


Figura 3. Colon de rata hembra de 6 meses de edad. En las criptas (C) intestinales se aprecian mucinas neutras (MN), mucinas ácidas (MA) débilmente sulfatadas. Mezcla de mucinas (MM). Tinción PAS-azul alciano pH 2.5 (x 78.75)

abundante cantidad de mucina ácida presente en el intestino grueso, como respuesta a la presencia de bacterias impidiendo así su adhesión.¹⁷

La distribución de mucinas neutras varía según la edad. Se desconoce el significado funcional de la presencia de mucinas neutras en las vellosidades en las primeras edades y ácidas en etapas adultas, por lo que conocer la función específica de cada tipo de mucina puede ayudar a explicar estas variaciones. Por ahora,

trabajos previos indican cambios histoquímicos en casos patológicos o experimentales sin explicar su significado funcional.^{6, 7, 19, 20, 21}

En el intestino delgado de la rata hembra, en las primeras etapas del desarrollo predominan mucinas neutras y en adultos mucinas ácidas.

En el intestino grueso en todas las edades estudiadas, se encontraron mucinas ácidas débilmente sulfatadas, mezcla de mucinas y a veces neutras en la zona apical de la cripta.

Las características histoquímicas del intestino delgado y grueso de ratas macho y hembras de la cepa Wistar son semejantes.

Las condiciones hormonales cíclicas en la hembra no influyen en las características histoquímicas del intestino.

Abstract

The small and large intestine of 69 Wistar rats, aged 1 to 360 days, were studied in order to examine the histochemical characteristics of the intestinal mucins of female rats as well as their distribution under normal conditions. Tissue samples (2 cm) were collected from the duodenum, jejunum, ileum, colon and rectum. They were processed and included in paraffin for microscopic view (5 m thick transversally cut samples). The staining techniques used were Schiff periodic acid, Alcian blue (pH 2.5) and fuchsin-aldehyde in order to determine the presence of mucins. Results showed that the mucins from the villi and crypts from the small intestine are acidic, neutral and a mixture of both the first 28 days of life. At later ages, up to 360 days, the neutral mucins are limited to intestinal crypts. In the large intestine, in the ages studied, weakly sulfated acidic mucins were found at the base of the crypts, while a mixture of mucin and occasionally some neutral ones were found in the apical area of the crypt. In the first stage of development of the female rat, neutral mucins seem to predominate while in the adult rat, acidic mucins dominate. This is similar to what is seen in the male rat during the same age periods, which demonstrates that female hormonal cycles have no influence on the histochemical characteristics of the intestine.

Literatura citada

1. Baker, S.J., Mathan, V.I. and Cherian, V.: The nature of the villi in the small intestine of the rat. *Acta Anat.*, 50: 860-865 (1962).
2. Borthistle, B.K. and Kubo, R.T.: Studies on receptors for IgG on epithelial cell of the rat intestine. *J. Immunol.*, 119: 471-475 (1977).
3. Cook, H.C.: Mucinas de los Tejidos Humanos. *Manual Moderno*, México, D.F., 1976.
4. Dogson, K.S., White, G.F. and Fitzgerald, J.W.: Sulfatases of microbial origin harrow. *Gut*, 29: 1-7 (1982).
5. Danílova, V.I.: Histología. *Mir*, Moscú, 1985.
6. Fahim, R.E. and Forstner, G.G.: Structural and compositional differences between intracellular and secreted mucin of rat small intestine. *Biochem. J.*, 248: 389-396 (1987).

7. Fahim, R.E. and Specian, R.D.: Characterization and localization of the putative link component in rat small-intestinal mucin. *Biochem. J.*, 243: 631-640 (1987).
8. Filipe, M.I., Mason, R.C., Taylor, P.R. and McColl, P.: Surgically induced duodenal-gastric reflux and stump carcinoma in the rat: Morphological aspects. *J. Pathol.*, 154: 70-74 (1988).
9. Filipe, M.I. and Sandy, A.: Mucin in developing foetal gut; an insight into cell differentiation and maturation in the adult. *J. Pathol.*, 154: 75-79 (1988).
10. Gallegher, H.C.: Factores Nutricionales y Trastornos Enzimáticos en los Animales. *Edición Revolucionaria*, La Habana, Cuba, 1968.
11. Georges, P. and Dandridge, G.: Reversibility of spermine-induced intestinal maturation in the rat. *Dig. Dis. Sci.*, 35: 1528-1536 (1990).
12. Gordon, B.L.: Lo Esencial de la Inmunología. 2a ed. *Manual Moderno*, México, D.F., 1975.
13. Kekki, M., Sipponen, P. and Siurala, M.: Age behaviour of gastric acid secretion in males and females with a normal antral and body mucosa. *Scand. J. Gastroenterol.*, 18: 1009-1016 (1983).
14. Koldovsky, O.: Development of the functions of the small intestine in mammals and man. *Karger Basel S.*, Basel, Switzerland, 1969.
15. Lillie, R.D.: Studies on the histochemistry of normal and pathological mucin in man and laboratory animals. *Boll. Int. Ass. Med. Muscums*, 29: 1-53 (1949).
16. Lindstrom, C.G. and Rosengren, J.E.: Colon of the rat. *Acta Radiol. Diag.*, 20: 523-535 (1979).
17. McWeegan, E., Burr, D.H. and Walker, R.: Intestinal mucus gel and secretory antibody are barriers to *Campylobacter jejuni* adherence to in 407 cell. *Infect. Immunol.*, 55: 1431-1435 (1987).
18. Mimori, T., Nawa, Y., Korenaga, M. and Tada, I.: *Strongyloides ratti*: Mast cell and Goblet cell responses in the small intestine of infected rats. *Exp. Parasitol.*, 54: 366-370 (1982).
19. Ohara, S. and Ishihara, K.: Comparative study on mucus glycoproteins in rat stomach and duodenum. *Biochem. Physiol.*, 83: 273-275 (1986).
20. Pabst, R.: The anatomical basis for the immune function of the gut. *Anat. Embryol.*, 176: 135-144 (1987).
21. Thomson, A.B. and Keelan, M.: The aging gut. *J. Physiol. Pharmacol.*, 64: 30-38 (1986).
22. Viguera, R.M., Hernández, G.R. y Cravioto, M.J.: Características histoquímicas de la mucosa intestinal de la rata durante el primer año de vida. *Acta Med. Méx.*, 27: 15-17 (1991).