Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado
Facultad de Medicina Veterinaria
Unidad de Posgrado

Ontogenia del epitelio intestinal de la alpaca (*Vicugna Pacos)*

TESIS

Para optar el Grado Académico de Doctor en Medicina Veterinaria

AUTOR

María Elith VÁSQUEZ CACHAY

ASESOR

Dr. Felipe Antonio SAN MARTIN HOWARD

Lima, Perú

2021



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Vásquez M. Ontogenia del epitelio intestinal de la alpaca (Vicugna Pacos) [Tesis de doctorado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Unidad de Posgrado; 2021.

Hoja de metadatos complementarios

Código ORCID del autor	https://orcid.org/0000-0002-1698-0117
DNI o pasaporte del autor	09945245
Código ORCID del asesor	https://orcid.org/0000-0001-5036-8135
DNI o pasaporte del asesor	09300356
Grupo de investigación	Grupo de Investigación en Fisiología y Fisiopatología en Animales de Trópico y de Altura Grupo de Investigación en Nutrición y Alimentación Animal
Agencia financiadora	**PAIS**
	PERÚ
	NOMBRE Y SIGLAS DE LA AGENCIA FINANCIADORA
	INNOVATE PERÚ, UNMSM
	NOMBRE DEL PROGRAMA FINANCIERO:
	PIBAP, Investigación Básica CON-CON PTPDOCTO
	N° DE CONTRATO
	PIBAP N° 65, 173-FINCYT-IB-2013 120801201 A17080056b
Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación	**LUGAR**
	Perú, Lima, San Borja Cuzco, Maranganí, Puno, Ñuñoa Apurímac, Andahuaylas Huancavelica, Huancavelica
	COORDENADAS GEOGRAFICAS
	Latitud: -12.081539 | Longitud: -76.987415 Latitud: -14.357374 | Longitud: -71.168642 Latitud: -14.47788 | Longitud: -70.63583 Latitud: -13.777694 | Longitud: -73.428541 Latitud: -12.790403 | Longitud: -75.037373
Año o rangos de años en que se realizó la investigación	2011-2021

Disciplinas OCDE	Ciencias veterinarias https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.00 Fisiología https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.08 Anatomía, Morfología https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.01

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Medicina Veterinaria
UNIDAD DE POSGRADO

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS MODALIDAD VIRTUAL PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE DOCTOR EN MEDICINA VETERINARIA

En la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, siendo las 15:00 horas del día lunes 19 de abril del 2021, el Jurado Examinador de Tesis de Grado de Doctor, presidido por el Dr. Luis Ramiro Luna Espinoza y conformado por los siguientes miembros docentes: Dr. William Arthur Barrios Santos, Dr. Claudio Gustavo Barbeito y el Dr. Felipe Antonio San Martín Howard (Asesor), se dio inicio a la sustentación oral y pública de la Tesis intitulada:

"ONTOGENIA DEL EPITELIO INTESTINAL DE LA ALPACA (*Vicugna Pacos*)", presentado por la Magíster:

MARÍA ELITH VÁSQUEZ CACHAY

Quien sustentó la Tesis para obtener el Grado Académico de Doctor en Medicina Veterinaria y absolvió satisfactoriamente las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado y practicada la votación obtuvo la calificación de: **EXCELENTE (19)**

A continuación, el Presidente del Jurado recomendó a la Unidad de Posgrado de la Facultad de Medicina Veterinaria, proponga el otorgamiento del Grado Académico de Doctor en Medicina Veterinaria, a la Magister María Elith Vásquez Cachay.

Siendo las **17:30** horas del día lunes 19 de abril de 2021, se dio por concluido el acto académico, suscribiéndose la presente Acta.

…….
Dr. Luis Ramiro Luna Espinoza (P.Aux.D.E.)
Presidente

……..……..
Dr. William Arthur Barrios Santos (P.Aux.D.E.)
Miembro

…….
Dr. Claudio Gustavo Barbeito
Miembro externo

……..
Dr. Felipe San Martín Howard (P.P.D.E.)
Miembro (Asesor)

UNMSM
Firmado digitalmente por GAVIDIA CHUCAN Cesar Miguel FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 17.05.2021 11:28:12 -05:00

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA - UNIDAD DE POST-GRADO - DIRECCION - U.N.M.S.M.

……
Dr. Cesar Miguel Gavidia Chucán (P.P.D.E.)
Director de la Unidad de Posgrado
Facultad de Medicina Veterinaria - UNMSM

Sentí la vida misma en agosto,
Iluminada por el sol cual rocío,
Jazmines alegraron el alma
A lo largo del camino.

Me llamaste mamita mía,
En tus murmullos de día;
Viste mis luchas y alborozos,
Como si fueran retos de vida.

Juntaste tus manitos a las mias,
Calmando mis miedos y melancolías,
Haciendo de mi vida,
Una vida de alegría.

A Sofía y José Antonio que son mi motivo, que día a día me enseñan que en la vida no hay límites.

A mi madre que ha sido el pilar de la familia para lograr cada meta y cuyo amor es la base para el éxito.

Un beso hasta el cielo, a quienes me empujaron a continuar estudiando, y quienes hasta el último día se alegraron por cada logro conseguido, mis grandes maestros. Papá y Dr. Cueva, puedo decirles, lo logramos.

Agradecimientos:

Con mucho cariño un agradecimiento muy especial al Dr. Claudio Barbeito, quien ha sido un amigo y maestro en estos años, cuyas enseñanzas y amistad han marcado un camino de aprendizaje; de todo corazón, mil gracias Claudio.

Al Dr. Felipe San Martín por todo el apoyo brindado para la culminación de la presente Tesis.

Al Dr. Raúl Rosadio, cuya amistad y apoyo han sido importantes para el desarrollo del proyecto y el inicio de una línea de investigación que contínua avanzando día a día.

Al super equipo de amigos, compañeros, mi familia, que día a día han compartido conmigo cada paso del desarrollo de este trabajo, y han participado de cada una de las etapas haciendo que el día a día sea un trabajo de equipo. Mil gracias, Boris, José Luis, Juancito, Dr. Ayón, Manuelito, Verónica y Luz.

Un cariño muy especial para Nilda, César, Klaudia, Stephanie, Madeline que apoyaron en diferentes etapas del desarrollo de la tesis.

Un agradecimiento muy especial a Miluska Navarrete, al Dr. Alberto Sato y al Dr. Gilberto Santillán, quienes siempre estuvieron prestos a brindar sus conocimientos de anatomía e histología y su amistad, mil gracias.

A Carolina Zanuzzi y Fabian Nishida, amigos que siempre me han recibido con un abrazo, muchas enseñanzas y siempre dispuestos a ayudar. Gracias Caro y Fabian por ser parte de este equipo.

A María Salazar, cuyo aporte ha sido invaluable para el desarrollo de la tesis; cuyas enseñanzas en las diferentes técnicas histológicas han sido fundamentales para cumplir con los objetivos programados. Mil gracias, María.

Un agradecimiento especial, a la Dra. Nieves Sandoval, por el apoyo brindado y compartir con el estudio muestras de su banco de muestras. Mil gracias, Dra. Nieves.

Al Dr. César Caro, por todas las facilidades brindadas para el desarrollo de técnicas histológicas en el Laboratorio de Patología del SENASA.

Al Dr. Néstor Falcón, un gran profesor y amigo que siempre está dispuesto a ayudar y dar sus consejos, mil gracias, Néstor.

A Lenin y Siever, por todo el apoyo brindado en diferentes etapas del desarrollo de la tesis y por brindarme su amistad siempre. Mil gracias, amigos.

Un agradecimiento especial a los Drs. William Barrios y Luis Luna por los aportes realizados al presente manuscrito.

La presente Tesis ha sido desarrollada con el financiamiento de los siguientes proyectos de investigación:

Proyectos INNOVATE Perú:

Proyecto FINCyT PIBAP N° 65 "Caracterización del desarrollo del tracto intestinal en crías de alpacas".

Proyecto INNOVATE Perú N° 173-FINCYT-IB-2013 "Estudio de la barrera intestinal con cuadros entéricos producidos por *Escherichia coli* en crías de alpacas".

Proyectos UNMSM

Proyecto CON CON Identificación de células neuroendocrinas en el tracto intestinal de crías de alpacas. Parte I.

Proyecto CON CON Identificación de células neuroendocrinas en el tracto intestinal de crías de alpacas. Parte II.

Proyecto de Promoción de Tesis 2017: Ontogenia del epitelio del tracto intestinal de la alpaca (*Vicugna pacos*).

PUBLICACIONES

A partir de la presente tesis se han realizado las siguientes publicaciones:

- pH de la superficie luminal de la mucosa gastrointestinal de crías de alpacas durante las primeras semanas de edad. Rev Inv Vet Perú 2012; 23(1): 20-26.
- Identificación de Células Enteroendocrinas Productoras de Péptido Similar al Glucagón Tipo 1 (GLP-1) en el Intestino de la Alpaca. Rev Inv Vet Perú 2015; 26(3): 373-380.
- Characterization of Paneth Cells in alpacas (*Vicugna pacos*, Mammalia, Camelidae). Tissue and Cell 2016; 48(4): 383-388.

ÍNDICE

LISTA DE CUADROS xiv

LISTA DE FIGURAS xviii

ABREVIATURAS xxviii

RESUMEN xxxii

SUMMARY xxxiii

I. INTRODUCCIÓN 1

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA 1

2.1 GENERALIDADES SOBRE CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS 1

2.2 CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES DEL SISTEMA DIGESTIVO DE LOS CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS 5

2.2.1 Estómago 5

2.2.2 Porciones Intestinales 6

2.3 ESTRUCTURA HISTOLÓGICA DEL INTESTINO 9

2.3.1 Intestino delgado 9

2.3.2 Intestino Grueso 15

2.4 ONTOGENIA DEL EPITELIO INTESTINAL 17

2.4.1 Etapa prenatal 17

2.4.2 Etapa postnatal 27

2.5 TIPOS CELULARES QUE FORMAN EL EPITELIO INTESTINAL 29

2.5.1 Células blásticas pluripotenciales o células madre: 29

2.5.2 Enterocito tipo fetal o enterocito vacuolado fetal (EVF) 34

2.5.3 Enterocito 35

2.5.4 Células caliciformes (CCAL) 40

2.5.5 Células de Paneth (CP) 42

2.5.6 Células enteroendocrinas (CEE) 44
2.5.7 Células sensitivas o células en cepillo 50
2.6 ESTRUCTURA DE LA BARRERA INTESTINAL 51
2.6.1 Importancia de los glicoconjugados en la barrera intestinal 57
III. MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES 61
3.1 LUGAR DE EJECUCIÓN 61
3.2 ANIMALES 61
3.3 METODOLOGÍA 62
3.3.1 Evaluación de los animales 62
3.3.2 Sacrificio de los animales 63
3.3.3 Toma de Muestra 63
3.3.4 Procesamiento de muestras fijadas en formol 63
3.3.5 Coloraciones desarrolladas 64
3.3.5.1 Hematoxilina Eosina (H-E) 64
3.3.5.2 Tricrómico de Masson 65
3.3.5.3 Ácido Peryódico de Schiff (PAS) - Azul Alcian (AA) 66
3.3.5.4 Floxina Tartrazina 67
3.3.6. Técnica de Lectinhistoquímica (LHQ) 68
3.3.7 Técnica de Inmunohistoquímica (IHQ) 70
IV. CAPÍTULO I: ESTUDIO MORFOLÓGICO Y MORFOMÉTRICO DEL EPITELIO INTESTINAL A LO LARGO DE LA ONTOGENIA 74
4.1 OBJETIVO 74
4.2 METODOLOGÍA 74
4.2.1 Evaluación del pH de la mucosa intestinal 74
4.2.2. Estudio del desarrollo morfológico 75
4.2.3. Estudio de los cambios morfométricos del epitelio intestinal 75

4.3. RESULTADOS 77
4.3.1. pH Intestinal 77
4.3.2. Morfología Intestinal 79
4.3.2.1. Intestino Delgado 79
4.3.2.1.1 Duodeno 79
4.3.2.1.1.1 Periodo Fetal 79
4.3.2.1.1.2 Periodo posnatal 85
4.3.2.1.2 Yeyuno 87
4.3.2.1.2.1 Periodo fetal 87
4.3.2.1.2.2 Periodo posnatal 91
4.3.2.1.3 Íleon 93
4.3.2.1.3.1 Periodo fetal 93
4.3.2.1.3.2 Periodo posnatal 96
4.3.2.2 Intestino Grueso 99
4.3.2.2.1 Ciego 99
4.3.2.2.1.1 Etapa Fetal 99
4.3.2.2.1.2 Etapa postnatal 102
4.3.2.2.2 Colon 104
4.3.2.2.3 Colon ascendente 104
4.3.2.2.3.1 Etapa fetal 104
4.3.2.2.3.2 Etapa Postnatal 108
4.3.2.2.4 Colon Transverso 110
4.3.2.2.4.1 Etapa fetal 110
4.3.2.2.4.2 Etapa postnatal 113
4.3.2.2.5 Colon Descendente 115
4.3.2.2.5.1 Etapa fetal 115
4.3.2.2.5.2 Etapa postnatal 117

4.3.3 Morfometría Intestinal 119
4.3.3.1 Intestino Delgado 119
4.3.3.1.1 Pared intestinal 119
4.3.3.1.2 Mucosa intestinal 120
4.3.3.1.3 Morfometría de vellosidades y criptas de Lieberkühn 120
4.3.3.2 Intestino grueso 124
4.3.3.2.1 Pared intestinal 125
4.3.3.2.2 Mucosa intestinal 125
4.3.3.2.3 Morfometría de vellosidades y criptas de Lieberkühn 126
V. CAPÍTULO II: DETERMINACIÓN DE LOS PROCESOS DE DIFERENCIACIÓN Y MADURACIÓN DEL EPITELIO INTESTINAL. 130
5.1. OBJETIVO 130
5.2. METODOLOGÍA 130
5.2.1 Enterocitos 130
5.2.2 Células Caliciformes (CCAL) 131
5.2.3. Células de Paneth (CP) 132
5.2.4 Células enteroendocrinas (CEE) 134
5.2.4.1. Células L 134
5.2.4.2 Células K 134
5.2.4.3 Células I 134
5.4.3.4 Células N 135
5.3. RESULTADOS 135
5.3.1 Enterocitos 135
5.3.1.1 Etapa fetal 135
5.3.1.2 Etapa postnatal: 136
5.3.2 Células Caliciformes (CCAL) 144
5.3.2.1 Morfología y número de CCAL 144

5.3.2.2 Estudio de células caliciformes mediante coloración PAS-AA 148
5.3.2.3 Estudio de células caliciformes mediante lectinhistoquímica (LHQ) 151
5.3.3 Células de Paneth (CP) 167
5.3.3.1 Características morfológicas.....167
5.3.3.2 Estudio morfométrico.....171
5.3.3.3 Número de células de Paneth.....171
5.3.4 Células Enteroendocrinas (CEE) 173
5.3.4.1 Células L 173
5.3.4.2 Células K.....176
5.3.4.3 Células I 177
5.3.4.4 Células N.....178
VI. CAPITULO III: EXPRESIÓN DE GLICOCONJUGADOS DEL EPITELIO INTESTINAL 181
6.1 OBJETIVO 181
6.2 METODOLOGÍA..... 181
6.2.1 Técnica histoquímicas de ácido peryódico-Schiff (PAS)-azul alcian (AA) 181
6.2.2 Lectinhistoquímica (LHQ)..... 182
6.3. RESULTADOS 183
6.3.1 PAS-AA..... 183
6.3.1.1 Intestino delgado 183
6.3.1.2 Intestino grueso 184
6.3.2 Lectinhistoquímica..... 189
6.3.2.1 Lectina RCA-1 189
6.3.2.2 Lectina DBA 194
6.3.2.3 Lectina GSL-1 199
6.3.2.4 Lectina SBA:.....204
6.3.2.5 Lectina SJA 209

6.3.2.6 Lectina PNA 213
6.3.2.7 Lectina WGA 218
6.3.2.8 Lectina SWGA 223
6.3.2.9 Lectina UEA-1 228
6.3.2.10 Lectina Con A 232
6.3.2.11 Lectina LCA 236
6.3.2.12 Lectina PSA 240
6.3.2.13 Lectina PHA-L 244
6.3.2.14 Lectina PHA-E 249
VII. CAPÍTULO IV: DETERMINACIÓN DE PROCESOS DE PROLIFERACIÓN Y MUERTE CELULAR DEL EPITELIO INTESTINAL 253
7.1. OBJETIVO 253
7.2. METODOLOGÍA 253
7.2.1 Proliferación celular 253
7.2.2 Muerte celular 254
7.3. RESULTADOS 256
7.3.1 Proliferación celular 256
7.3.2 Muerte Celular 261
VIII. DISCUSIÓN 264
8.1. DESARROLLO INTESTINAL 264
8.2. TIPOS CELULARES 273
8.2.1 Enterocitos 274
8.2.2 Células caliciformes (CCAL) 283
8.2.3 Células de Paneth (CP) 289
8.2.4 Células Enteroendocrinas (CEE) 292
8.3 pH DE LA MUCOSA INTESTINAL 296

IX. CONCLUSIONES 298
X. RECOMENDACIONES 301
XI. BIBLIOGRAFÍA 302

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1: Tipo de células enteroendocrinas (CEE) y su distribución en el tracto gastrointestinal 46
Cuadro 2: Distribución de animales según grupo etario 62
Cuadro 3: Protocolo de procesamiento histológico de muestras de tejidos intestinales de alpacas 64
Cuadro 4: Protocolo de coloración de muestras de intestino de alpacas con Hematoxilina- Eosina 65
Cuadro 5: Protocolo de coloración de muestras de intestino de alpacas con Tricrómico de Masson 66
Cuadro 6: Protocolo de tinción de muestras de intestino de alpacas con Ácido Peryódico de Schiff - Azul Alcian (PAS-AA). 67
Cuadro 7: Protocolo para procesamiento de muestras de intestino de alpacas mediante la coloración Floxina Tartrazina. 68
Cuadro 8: Propiedades de lectinas (Vector Laboratories). 70
Cuadro 9: Protocolo para procesamiento de muestras de intestino de alpacas mediante la técnica de lectinhistoquímica (LHQ). 71
Cuadro 10: Protocolo para procesamiento de muestras de intestino de alpaca mediante la técnica de Inmunohistoquímica (IHQ) por el método ABC. 72
Cuadro 11: Protocolo para el procesamiento de muestras de intestino de alpacas mediante la técnica de Inmunohistoquímica (IHQ), método Streptavidina-Biotina Peroxidasa. 73
Cuadro 12: pH de la mucosa intestinal de alpacas. 78
Cuadro 13: Espesor de pared intestinal (µm) del intestino delgado de alpacas. 119
Cuadro 14: Espesor de la mucosa del (µm) intestino delgado de alpacas. 120
Cuadro 15: Número de vellosidades por mm de longitud en el intestino delgado de alpacas 122
Cuadro 16: Número de criptas por mm de longitud en el intestino delgado de alpacas. 122
Cuadro 17: Longitud de vellosidades (µm) en intestino delgado de alpacas. 123
Cuadro 18: Ancho de vellosidades (µm) en intestino delgado de alpacas. 123
Cuadro 19: Longitud de criptas Lieberkhün (µm) en intestino delgado de alpacas. 124
Cuadro 20: Ancho de criptas (µm) en intestino delgado de alpacas. 124
Cuadro 21: Espesor de la pared (µm) del intestino grueso de alpacas. 125
Cuadro 22: Espesor de la mucosa (µm) del intestino grueso de alpacas. 126
Cuadro 23: Número de vellosidades por mm de longitud en intestino grueso de alpacas. 127
Cuadro 24: Número de criptas por mm de longitud en intestino grueso de alpacas. 127

Cuadro 25: Longitud de vellosidades (µm) en intestino grueso de alpacas. 128
Cuadro 26: Ancho de vellosidades (µm) en intestino grueso de alpacas. 128
Cuadro 27: Longitud de criptas (µm) en intestino grueso de alpacas. 129
Cuadro 28: Ancho de criptas (µm) del intestino grueso de alpacas. 129
Cuadro 29: Grado de marcación de transportadores SGLT-1 en eje cripta vellosidad del intestino delgado de alpacas 142
Cuadro 30: Grado de marcación de transportadores GLUT-2 en el eje cripta vellosidad del intestino delgado de alpacas. 143
Cuadro 31: Número de células caliciformes en el eje cripta-vellosidad en intestino delgado de alpacas.....145
Cuadro 32: Tinción de células caliciformes con PAS-AA en epitelio intestinal de alpacas. 149
Cuadro 33: Patrón de unión de la lectina RCA-1 en células caliciformes del epitelio intestinal de alpacas.....151
Cuadro 34: Patrón de unión de la lectina DBA en células caliciformes del epitelio intestinal de alpacas.....153
Cuadro 35: Patrón de unión de la lectina GSL-1 en células caliciformes del epitelio intestinal de alpacas.....155
Cuadro 36: Patrón de unión de la lectina SBA en células caliciformes del epitelio intestinal de alpacas.....156
Cuadro 37: Patrón de unión de la lectina SJA en células caliciformes del epitelio intestinal de alpacas.....157
Cuadro 38: Patrón de unión de la lectina WGA en células caliciformes del epitelio intestinal de alpacas.....158
Cuadro 39: Patrón de unión de la lectina SWGA en células caliciformes del epitelio intestinal de alpacas.....159
Cuadro 40: Patrón de unión de la lectina UEA-1 en células caliciformes del epitelio intestinal de la alpaca. 161
Cuadro 41: Patrón de unión de la lectina LCA en células caliciformes del epitelio intestinal de alpacas.....162
Cuadro 42: Patrón de unión de la lectina PSA en células caliciformes del epitelio intestinal de alpacas.....164
Cuadro 43: Patrón de unión de la lectina PHA-E en células caliciformes del epitelio intestinal de alpacas.....166
Cuadro 44: Morfometría de células de Paneth en intestino delgado de alpacas. 172

Cuadro 45: Número de células de Paneth en intestino delgado de alpacas. 173
Cuadro 46: Número de Células L productoras de GLP-1 por eje cripta vellosidad en epitelio intestinal de alpacas. 175
Cuadro 47: Número de Células K productoras de GIP por eje cripta vellosidad en epitelio intestinal de alpacas. 176
Cuadro 48: Número de células I productoras de CCK por eje cripta vellosidad en epitelio intestinal de alpacas. 178
Cuadro 49: Número de células N productoras de neurotensina por eje cripta vellosidad en epitelio intestinal de alpacas. 180
Cuadro 50: Tinción PAS-AA en intestino delgado de alpacas. 187
Cuadro 51: Tinción PAS-AA en intestino grueso de alpacas. 188
Cuadro 52: Patrón de unión de la lectina RCA-1 al intestino delgado de alpacas. 192
Cuadro 53: Patrón de unión de la lectina RCA-1 al intestino grueso de alpacas. 193
Cuadro 54: Patrón de unión de la lectina DBA al intestino delgado alpacas. 197
Cuadro 55: Patrón de unión de la lectina DBA al intestino grueso alpacas. 198
Cuadro 56: Patrón de unión de la lectina GSL-1 al intestino delgado de alpacas 202
Cuadro 57: Patrón de unión de la lectina GSL-1 al intestino grueso de alpacas. 203
Cuadro 58: Patrón de unión de la lectina SBA al intestino delgado de alpacas. 207
Cuadro 59: Patrón de unión de la lectina SBA al intestino grueso de alpacas. 208
Cuadro 60: Patrón de unión de la lectina SJA al intestino delgado de alpacas. 211
Cuadro 61: Patrón de unión de la lectina SJA al intestino grueso de alpacas. 212
Cuadro 62: Patrón de unión de la lectina PNA al intestino delgado de alpacas. 216
Cuadro 63: Patrón de unión de la lectina PNA al intestino grueso de alpacas. 217
Cuadro 64: Patrón de unión de la lectina WGA al intestino delgado de alpacas. 221
Cuadro 65: Patrón de unión de la lectina WGA al intestino grueso de alpacas. 222
Cuadro 66: Patrón de unión de la lectina SWGA al intestino delgado de alpacas. 226
Cuadro 67: Patrón de unión de la lectina SWGA al intestino grueso de alpacas. 227
Cuadro 68: Patrón de unión de la lectina UEA-1 al intestino delgado de alpacas. 230
Cuadro 69: Patrón de unión de la lectina UEA-1 al intestino grueso de alpacas. 231
Cuadro 70: Patrón de unión de la lectina Con A al intestino delgado alpacas. 234
Cuadro 71: Patrón de unión de la lectina Con A al intestino grueso de alpacas. 235
Cuadro 72: Patrón de unión de la lectina LCA al intestino delgado de alpacas. 238
Cuadro 73: Patrón de unión de la lectina LCA al intestino grueso de alpacas. 239
Cuadro 74: Patrón de unión de la lectina PSA al intestino delgado de alpacas. 242

Cuadro 75: Patrón de unión de la lectina PSA al intestino grueso de alpacas.....243
Cuadro 76: Patrón de unión de la lectina PHA-L al intestino delgado de alpacas. 247
Cuadro 77: Patrón de unión de la lectina PHA-L al intestino grueso de alpacas. 248
Cuadro 78: Patrón de unión de la lectina PHA-E al intestino delgado de alpacas. 251
Cuadro 79: Patrón de unión de la lectina PHA-E al intestino grueso de alpacas. 252
Cuadro 80: Procedimiento de la prueba de Tunel con el kit ApotTag® Plus Peroxidase In Situ para detección de apoptosis (Millipore, USA) en intestino de alpacas. 255
Cuadro 81: Grado de marcación con PCNA en los ejes cripta vellosidad de intestino delgado de alpacas.....257
Cuadro 82: Grado de marcación con PCNA en las células del eje cripta vellosidad de intestino grueso de alpacas. 259
Cuadro 83: Número de células apoptóticas en el eje cripta vellosidad del intestino delgado de alpacas.....261
Cuadro 84: Número de células apoptóticas en las criptas del intestino grueso de alpacas. 262

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estructura de la barrera intestinal. Creado con BioRender.com 54
Figura 2: Duodeno de fetos de alpaca de 46 días de gestación. a) 10x, b), c), d) 40x. E: epitelio, SM: submucosa, CM: células musculares, CN: células nerviosas, S: serosa; VS: vaso sanguíneo, CI: circular interna, LE: longitudinal externa, Ev: evaginaciones. Coloración H-E. 80
Figura 3: Duodeno de fetos de alpaca de 56 días de gestación. CN: células nerviosas, E: epitelio, CCAL: células caliciformes, VS: vasos sanguíneos. 40x. Coloración H-E. 81
Figura 4: Duodeno de fetos de alpaca de primer tercio de gestación. a) 80 días; 10x. b) 80 días, 63x. c), d) 103 días, 40x. Ev: evaginaciones; LP: lámina propia, CE: células epiteliales, CCr: células cromófobas, CCAL: células caliciformes. Coloración H-E. 82
Figura 5: Duodeno de fetos de alpaca de segundo tercio de gestación. a), b) 119 días; 40x. c) 164 días, 63x. d) 207 días, 40x. Coloración H-E. 83
Figura 6: Duodeno de fetos de alpaca de tercer tercio de gestación. a), c), d) 293 días; 63x. b) 293 días, 40x. e) 317 días, 10x. f), g), h) 334 días, 40x. GB: glándulas de Brünner, MM: muscular de la mucosa, C: cripta, MB: músculo de Brücke, CCAL: caliciformes, e: enterocitos, 40x. Coloración H-E. 84
Figura 7: Duodeno de crías de alpaca recién nacidas. a), b) c) 10x d) 40x. Coloración H-E. 85
Figura 8: Duodeno de crías de alpacas. a), c) 1 día, 10x. b) 1 día, 40x. d) 4 días, 40x. e) 5 días, 40x. f), g) 7 días, 10x. h) 15 días, 10x. Coloración H-E. 86
Figura 9: Duodeno de crías de alpacas. a) 18 días, 40x. b) 31 días, 40x. c) 45 días, 10x. d) 43 días, 40x. Coloración H-E 87
Figura 10: Yeyuno de fetos de alpaca de primer tercio de gestación. a) 46 días, b) 56 días, c), d) 80 días. Ev: evaginación, CM: células musculares, CCAL: células caliciformes, E: epitelio, LE: capa longitudinal externa, CI: capa circular interna, LP: lámina propia, SM: submucosa, CN: células nerviosas. 40x. Coloración H-E. 88
Figura 11: Yeyuno de fetos de alpaca de segundo tercio de gestación. a) 119 días; b), c) 207 días; d) 216 días. CCAL: células caliciformes, LE: capa longitudinal externa, CI: capa circular interna, LP: lámina propia, SM: submucosa, S: serosa. 40x. Coloración H-E. 89
Figura 12: Yeyuno de fetos de alpacas de tercer tercio de gestación. a) 230 días, 40x; b), c), d) 293 días, 40x e) 317 días, 10x; f) 321 días, 40x; g) 325 días, 40x; h) 334 días, 40x. CCAL: células caliciformes, CI: capa circular interna, CP: células de Paneth, QC: quilífero central; e: enterocitos, evf: enterocito vacuolado fetal, MB: músculo de Brücke, C: cripta. Coloración H-E. 90
Figura 13: Yeyuno de crías de alpacas recién nacidas. 40x. Coloración H-E. 91

Figura 14: Yeyuno de alpacas etapa postnatal. Crías: a) 1 día, 10x. b), c), d) 1 día, 40x. e) 4 días, 40x. f) 5 días, 40x. g) 17 días, 10x. h) adulto, 40x. AL: agregado linfoide, evf: enterocito vacuolado fetal, CA: células en apoptosis, QC: quilífero central, CCAL: células caliciformes. Coloración H-E. 92
Figura 15: Íleon de fetos de alpacas de primer tercio de gestación. a) 80 días, 10x. b), c) 80 días, 40x. d) 103 días, 40x. e) 119 días, 10x. f) 119 días, 40x. Ev: evaginación, SM: submucosa, CCAL: células caliciformes, CN: células nerviosas, LE: capa longitudinal externa, CI: capa circular interna, E: epitelio, LP: lámina propia. Coloración H-E.....94
Figura 16: Íleon de fetos de alpacas de segundo tercio de gestación. a), b) 119 días, 40x. c), d), e) 207 días, 40x. f) 221 días, 40x. LP: lámina propia, CN: células nerviosas, CCAL: células caliciformes, CI: capa circular interna, LE: capa longitudinal externa, E: epitelio, SM: submucosa. Coloración H-E. 95
Figura 17: Íleon de fetos de alpacas de tercer tercio de gestación. a) 230 días, 40x. b) 317 días, 10x. c) 325 días, 40x. d) 334 días, 10x e). f) 334 días, 40x. LI: linfocito intraepitelial, AL: agregado linfoide, CP: célula de Paneth, evf: enterocito vacuolado fetal. Coloración H-E. 96
Figura 18: Íleon de crías de alpacas. a) Recién nacido, 10x. b) 2 días, 40x. c), d) 3 días, 10x. e), f) 3 días, 40x. LI: linfocito intraepitelial, PP: placa de Peyer, evf: enterocito vacuolado fetal. Coloración H-E. 97
Figura 19: Íleon de alpacas etapa postnatal. Crías: a) 4 días, 40x. b) 5 días, 5x. c) 15 días 40x. d) 17 días, 10x. e) 18 días, 40x. f) 27 días, 10x. g) 42 días, 40x. h) adultos, 10x. Coloración H-E.98
Figura 20: Ciego de fetos de alpaca de primer tercio de gestación. a) 56 días, 40x. b) 80 días, 40x. c), d) 103 días 40x. E: epitelio, CMe: células mesenquimales, CCAL: células caliciformes, Ev: evaginación. Coloración H-E. 100
Figura 21: Ciego de fetos de alpaca de segundo tercio de gestación. a) 119 días, 10x. b) 110 días, 40x. c) 164 días 63x. d) 207 días, 40x. e) 207 días, 10x. f) 207 días, 63x. g) 207 días, 63x. h) 221 días, 63x. LP: lámina propia, CCAL: células caliciformes, C: cripta, MM: muscular de la mucosa, CP: célula de Paneth, LI: linfocito intraepitelial. Coloración H-E.....101
Figura 22: Ciego de fetos de alpaca de tercer tercio de gestación. a) 293 días, 40x. b), c) 325 días, 40x. d) 334 días, 40x. V: vellosidad, CA: células en apoptosis, CCAL: células caliciformes. Coloración H-E. 102
Figura 23: Ciego de alpacas. Crías: a) Recién nacido, 40x. b) 1 día, 40x. c) 2 días, 40x. d) 4 días, 40x. e) 21 días, 40x. f) Adulto, 40x. V: vellosidad, CA: células en apoptosis, C: cripta. Coloración H-E.....103
Figura 24: Colon de feto de alpaca de 46 días de gestación. 40x. Coloración H-E.....104

Figura 25: Colon ascendente de fetos de alpaca de primer tercio de gestación. a) 56 días, Tricrómico de Masson. b) 59 días, HE. c) 80 días, H-E. d) 103 días, H-E. 40x 105
Figura 26: Figura 26: Colon ascendente de fetos de alpaca de segundo tercio de gestación. a) 117 días, H-E. b) 129 días, Tricrómico de Masson. c) 141 días, H-E. d) 145 días, H-E. e) 206 días, H-E. f) 207 días, H-E. g) 216 días, H-E. h) 221 días, H-E. CCAL: células caliciformes, I: invaginación, CI: capa circular interna, LE: capa longitudinal externa, Ev: evaginación, V: vellosidad, AL: agregado linfoide, MB: músculo de Brücke. 40x.....106
Figura 27: Colon ascendente de fetos de alpaca de tercer tercio de gestación. a) 230 días, 10x. b) 230 días, 40x. c) 317 días, 40x. d) 320 días, 5x. e) 325 días, 40x. f) 334 días, 5x. g) 334 días, 63x. h) 334 días, 40x. Coloración H-E. 107
Figura 28: Colon Ascendente de crías de alpaca. a) Recién nacido, 10x. b), c) 1 día, 40x. d) 4 días, 40x. Coloración H-E. 108
Figura 29: Colon ascendente de alpacas. Crías: a) 5 días, 40x. b) 7 días 40x, c) 11 días, 40x. d) 21 días, 10x. e) 21 días, 40x. f) 43 días, 40x. g) adulto, 10x. h) Adulto, 40x. Coloración H-E. 109
Figura 30: Colon transverso de fetos de alpaca de primer tercio de gestación. a) 80 días, 10x. b), c) 80 días, 40x. d) 103 días, 10x. e), f) 103 días, 40x. Coloración H-E. 111
Figura 31: Colon transverso de fetos de alpaca de segundo tercio de gestación. a) 119 días, 10x. b), c) 119 días, 40x. d) 164 días, 40x. e), f) 121 días, 40x. Coloración H-E. 112
Figura 32: Colon transverso de fetos de alpaca de tercer tercio de gestación. a) 293 días, 40x. b) 317 días, 10x. c) 317 días, 40x. d) 334 días, 40x. CCAL: células caliciformes, CA: células en apoptosis. Coloración H-E. 113
Figura 33: Colon transverso de alpacas. Crías: a), b) 1 día, 40x. c) 3 días, 10x. d) 7 días, 10x. e) 31 días, 40x. f) 35 días, 10x. g) 43 días, 40x. h) Adulto, 40x. Coloración H-E. 114
Figura 34: Colon descendente de fetos de alpaca de primer tercio de gestación. a) 57 días, 40x. b), c) 80 días, 40x. d) 103 días, 40x. Coloración H-E.....115
Figura 35: Colon descendente de fetos de alpaca de segundo tercio de gestación. a) 119 días, 40x. Coloración Tricrómico de Masson. b) 141 días, 40x. c) 145 días, 40x. d) 206 días, 40x. Coloración H-E.....116
Figura 36: Colon descendente de fetos de alpaca de tercer tercio de gestación. a) 293 días, 40x. H-E. b) 325 días, 10x. Coloración Tricrómico de Masson. c) 334 días, 40x, H-E. d) 334 días, 10x, H-E.....117
Figura 37: Colon descendente de alpacas. Crías: a) 1 día, 10x. b) 1 día, 40x. c) 2 días, 10x. d) 5 días, 10x. e) 35 días, 10x. f) 39 días, 40x. g) 45 días, 40x. h) Adulto, 10x. Coloración H-E. ...118

Figura 38: Enterocitos en epitelio intestinal de alpacas de etapa fetal. a) duodeno, 80 días, 40x; b) colon ascendente, 80 días, 40x; c) colon descendente, 145 días, 40x; d) íleon, 221 días, 40x; e) yeyuno, 293 días, 40x; f) colon ascendente, 330 días, 10x; g) duodeno, 334 días, 40x; h) colon transverso, 334 días, 10x. Coloración H-E. 138
Figura 39: Enterocitos en epitelio intestinal de alpacas, etapa postnatal. a) yeyuno, 0 días, 40x; b) colon descendente, 5 días, 63x; c) duodeno, 3 días, 40x; d) colon descendente, 31 días, 63x; e) íleon, adulto, 63x; f) colon transverso, adulto, 63x. Coloración H-E. 139
Figura 40: Identificación de transportadores SGLT-1 en epitelio de intestino delgado de alpacas mediante IHQ. Etapa pre natal: a) yeyuno, 334 días; Etapa postnatal: b) yeyuno, 1 día de edad; c) íleon, 36 días; d) íleon, 45 días. 10x. Coloración de contraste Hematoxilina de Harris. 140
Figura 41: Identificación de transportadores GLUT-2 en epitelio de intestino delgado de alpacas mediante IHQ. Etapa prenatal: a) duodeno, 334 días, 10x. Etapa postnatal: b) duodeno, 0 días, 40x; c) duodeno, 1 día, 40x; d) duodeno, 11 días, 10x; e) íleon, 45 días, 10x. f) íleon, 45 días, 10x. Coloración de contraste Hematoxilina de Harris. 141
Figura 42: Células caliciformes en el epitelio intestinal en fetos de alpacas. a) duodeno, 56 días, 40x; b) colon ascendente, 80 días, 40x; c) íleon, 119 días, 40x; d) ciego, 207 días, 40x; e) yeyuno, 330 días, 40x; f) colon descendente, 334 días, 40x. Coloración H-E. 146
Figura 43: Células caliciformes en epitelio intestinal de alpacas. a) duodeno, recién nacido, 40x; b) colon descendente, 1 día, 63x; c) íleon, 15 días, 40x; d) colon transverso, 18 días, 40x; e) duodeno, 35 días, 40x; f) colon ascendente, 43 días, 40x; g) duodeno, adulto, 63x; h) colon descendente, adulto, 63x. Coloración H-E. 147
Figura 44: Células caliciformes en epitelio intestinal de alpacas. Etapa fetal: a) yeyuno, 56 días, 63x; b) colon ascendente, 119 días, 63x; c) colon ascendente, 230 días, 63x; d) yeyuno, 334 días, 40x. Etapa postnatal: e) duodeno, 2 días, 40x; f) duodeno, 7 días, 40x; g) duodeno, 30 días, 40x; h) colon transverso, adulto, 63x. Tinción PAS-AA. 150
Figura 45: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina RCA-1. a) colon descendente, feto 80 días, 63x; b) íleon, cría de alpaca de 3 días, 40x; c) colon ascendente, cría de 3 días, 40x; d) colon ascendente, cría de 18 días, 40x. Coloración de contraste Hematoxilina de Harris. 152
Figura 46: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina DBA. a) Duodeno, feto 119 días; b) colon ascendente, feto 216 días; c) colon ascendente, cría de 2 días; d) yeyuno, cría de 11 días; 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 153

Figura 47: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina GSL-1. a) íleon, feto de 103 días, 63x; b) ciego, feto 124 días, 63x; c) colon descendente, cría de 43 días, 40x; d) íleon, cría de 45 días; 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 155
Figura 48: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina SBA. a) Ciego, feto de 80 días; b) colon ascendente, feto 119 días; c) duodeno, cría de 1 día; d) colon descendente, cría de 41 días; 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 156
Figura 49: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina SJA. a) Íleon, cría de 37 días; b) colon ascendente, cría de 11 días; 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 157
Figura 50: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina WGA. a) íleon, feto de 141 días; b) ciego, feto de 216 días; c) íleon, cría de 7 días; d) ciego, cría de 42 días; 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.....158
Figura 51: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina SWGA. a) íleon, feto de 317 días; b) colon ascendente, cría de 5 días; c) ciego, cría de 37 días; d) íleon, cría de 45 días; 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 160
Figura 52: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina UEA-1. a) duodeno, feto de 334 días, 63x; b) colon ascendente, feto de 330 días, 40x; c) duodeno, cría de 7 días, 40x; d) colon transverso, cría de 39 días, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.....161
Figura 53: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina LCA. a) Yeyuno, feto de 80 días, 40x; b) colon ascendente, feto de 124 días, 63x; c) íleon, animal adulto, 40x; d) ciego, animal adulto, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 162
Figura 54: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina Con A. a) colon ascendente, feto de 334 días; b) duodeno, cría de 30 días; 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 163
Figura 55: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina PNA. a) yeyuno, feto de 46 días, 63x; b) colon transverso, feto de 334 días, 40x; c) colon ascendente, cría de 2 días, 40x; d) yeyuno, cría de 3 días, 40x. Coloración de contraste Hematoxilina de Harris. 163
Figura 56: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina PSA. a) Yeyuno, feto de 80 días, 63x; b) ciego, feto de 141 días, 40x; c) colon descendente, cría recién nacida, 40x; d) íleon, animal adulto, 40x. Coloración de contraste Hematoxilina de Harris. ...165
Figura 57: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina PHA-E. a) Duodeno, feto de 80 días; b) colon ascendente, feto de 230 días; c) duodeno, cría recién

nacida; d) colon descendente, cría de 42 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 166
Figura 58: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina PHA-L. a) Íleon, cría de 21 días; b) colon transverso, cría de 31 días; 40x. Coloración de transporte: Hematoxilina de Harris. 167
Figura 59: Células de Paneth en epitelio intestinal de alpacas. Coloración Hematoxilina Eosina. a) yeyuno, 7 días, 40x; b) duodeno, 37 días, 100x. Tricrómico de Masson: c) yeyuno, 4 días, 40x; d) íleon, 41 días, 100x. Floxina Tartrazina: e) yeyuno, 3 días, 100x; f) duodeno, 45 días, 100x. PAS-AA: g) duodeno, 21 días, 40x; h) yeyuno, 1 día, 100x.....169
Figura 60: Marcación de gránulos de células de Paneth. Lectinhistoquímica: a) lectina SBA, duodeno, cría recién nacida; b) lectina Con-A, duodeno, cría de 45 días; lectina PNA: c) íleon, cría de 45 días; d) yeyuno, cría de 45 días. Inmunomarcación de lisozima. Las flechas muestran células positivas con gránulos de células de Paneth positivos e) yeyuno de feto de 330 días de gestación; f) íleon de cría recién nacida, g) íleon de cría de 15 días. Inmunomarcación de antígeno de proliferación celular nuclear (PCNA), h) las flechas muestran células con inmunomarcación negativa en duodeno de animal adulto. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 100x. 170
Figura 61: Identificación de células L en epitelio intestinal de alpacas. Las flechas muestran células con inmunomarcación de péptido tipo glucagón en células L positivas de a) colon ascendente, feto de 119 días, 40x; b) colon ascendente, feto de 207 días, 63x; c) íleon, feto de 317 días, 40x; d) colon descendente, feto de 325 días, 40x; e) colon transverso, cría de 18 días, 40x; f) yeyuno, cría de 21 días, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 174
Figura 62: Identificación de células K en epitelio intestinal de alpacas. Las flechas muestran células con inmunomarcación de péptido inhibidor gástrico (GIP) en células K positivas de a) yeyuno, feto de 334 días, 40x; b) duodeno, cría de 18 días, 63x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 176
Figura 63: Identificación de células I en epitelio intestinal de alpacas. Las flechas muestran células con inmunomarcación de colecistoquinina (CCK) en células I positivas de a) yeyuno, feto de 325 días, 40x; b) yeyuno, feto de 334 días, 63x; c) yeyuno, cría de 21 días, 100x; d) duodeno, cría de 31 días, 63x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 177
Figura 64: Identificación de células N en epitelio intestinal de alpacas. Las flechas muestran células con inmunomarcación neurotensina en células N positivas de a) ciego, feto de 164 días, 40x; b) íleon, feto de 296 días, 63x; c) íleon, cría de 21 días, 40x; d) ciego, adulto, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 179

Figura 65: Tinción PAS-AA en intestino delgado de alpacas. Etapa Fetal: a) duodeno, 56 días, 40x; b) duodeno, 119 días, 40x; c) íleon, 216 días 63x; d) yeyuno, 317 días, 10x. Etapa postnatal: e) duodeno, 4 días, 40x; f) íleon, 5 días, 40x; g) duodeno, 27 días, 40x; h) yeyuno, 37 días, 10x. 185
Figura 66: Tinción PAS-AA en intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) colon descendente, 80 días, 40x; b) ciego, 141 días, 40x; c) ciego, 216 días, 40x; d) colon descendente, 296 días, 40x. Etapa postnatal: e) colon descendente, 2 días, 10x; f) ciego, 7 días, 40x; g) colon transverso, 31 días, 40x; h) colon ascendente, 42 días, 10x.....186
Figura 67: Marcación con lectina RCA-1 en intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: a) yeyuno, 56 días, 40x; b) íleon, 216 días, 40x; c) íleon, 334 días, 10x. Etapa postnatal: d) duodeno, 0 días, 40x; e) duodeno, 21 días, 40x; f) íleon, 45 días, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 190
Figura 68: Marcación con lectina RCA-1 en intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) ciego, 80 días; b) colon descendente, 216 días; c) colon descendente, 296 días. Etapa postnatal: d) ciego, 0 días; e) colon ascendente, 7 días; f) colon transverso, 31 días. 40x. coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 191
Figura 69: Marcación con lectina DBA en intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: a) Duodeno, 56 días; b) íleon, 119 días; c) íleon 334 días. Etapa postnatal: d) duodeno, 7 días; e) yeyuno 11 días; f) íleon, 41 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 195
Figura 70: Marcación con lectina DBA en el intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) ciego, 141 días, 40x; b) colon ascendente, 216 días, 40x; c) colon descendente, 334 días, 63x. Etapa postnatal: d) colon ascendente, 2 días, 40x; e) colon transverso, 10 días, 40x; f) colon ascendente, 37 días, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 196
Figura 71: Marcación con lectina GSL-1 en el epitelio del intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: a) duodeno, 103 días, 40x; b) duodeno, 146 días, 63x; c) íleon, 334 días, 40x. Etapa postnatal: d) duodeno, 5 días, 40x; e) duodeno 11 días, 40x, f) íleon 45 días, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 200
Figura 72: Marcación con lectina GSL-1 en el intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: colon ascendente, 103 días; b) ciego, 164 días; c) colon ascendente; 334 días. Etapa postnatal: d) colon ascendente, 31 días; e) ciego, 42 días; f) colon descendente, 43 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 201
Figura 73: Marcación con lectina SBA en el intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: íleon, 80 días, 40x; b) yeyuno, 119 días, 40x; c) yeyuno, 296 días, 40x. Etapa postnatal: d) duodeno, 1 día,

10x; e) íleon, 7 días, 40x; f) íleon, 15 días, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 205
Figura 74: Marcación con lectina SBA en el intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) ciego, 80 días; b) colon transverso, 119 días; c) colon ascendente, 334 días. Etapa postnatal: d) ciego, 1 día; e) colon transverso, 18 días; f) colon ascendente, 42 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 206
Figura 75: Marcación con lectina SJA en el intestino de alpacas. a) colon ascendente, 7 días, 40x; b) íleon 11 días; c) colon ascendente, 11 días; d) colon ascendente, 18 días; e) íleon, 36 días; f) íleon, 42 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 210
Figura 76: Marcación con lectina PNA en intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: a) yeyuno, 46 días; b) íleon, 141 días; c) íleon 334 días. Etapa postnatal: d) yeyuno, 3 días; e) íleon, 7 días; f) duodeno, 41 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 214
Figura 77: Marcación con lectina PNA en intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) colon descendente, 80 días; b) colon ascendente, 207 días; c) colon ascendente, 334 días. Etapa postnatal: d) colon ascendente, 1 día; e) colon ascendente; 30 días; f) ciego, 42 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 215
Figura 78: Marcación con lectina WGA en el intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: a) duodeno, 56 días, 40x; b) íleon, 141 días, 40x; c) íleon, 334 días, 40x. Etapa postnatal: d) duodeno, 0 días, 10x, e) íleon, 15 días, 40x, f) íleon, 37 días, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 219
Figura 79: Marcación con lectina WGA en el intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) colon descendente, 80 días; b) colon descendente, 216 días; c) colon ascendente, 334 días. Etapa postnatal: d) ciego, 4 días; e) colon ascendente, 18 días; f) colon descendente, 31 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 220
Figura 80: Marcación con lectina SWGA en el intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: a) duodeno, 103 días; b) duodeno, 216 días; c) íleon, 325 días; d) duodeno 330 días. Etapa postnatal: e) yeyuno, 1 día; f) íleon, 45 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 224
Figura 81: Marcación con lectina SWGA en el intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) colon ascendente, 334 días. Etapa postnatal: b) colon ascendente 4 días, c) ciego, 37 días; d) ciego, 42 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 225
Figura 82: Marcación con lectina UEA-1 en intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: a) duodeno, 325 días. Etapa postnatal: b) duodeno, 7 días; c) íleon, 7 días; d) íleon, 45 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 228

Figura 83: Marcación con lectina UEA-1 en el intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) colon ascendente, 334 días. Etapa postnatal: b) colon descendente, 3 días; c) ciego, 18 días; d) colon descendente, 37 días. 40x. coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 229
Figura 84: Marcación con la lectina Con A en el intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: a) yeyuno, 296 días. Etapa postnatal: b) duodeno, recién nacido; c) íleon, 15 días; d) duodeno, 37 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 232
Figura 85: Marcación con lectina Con A en el intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) colon ascendente, 334 días; b) colon descendente, 334 días. Etapa postnatal: c) ciego, 5 días, d) colon descendente, 37 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 233
Figura 86: Marcación con lectina LCA en el intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: a) duodeno 80 días, 63x; b) duodeno, 119 días, 63x; c) yeyuno, 330 días, 40x. Etapa postnatal: d) duodeno, recién nacido, 40x; e) duodeno, 33 días; 40x; f) duodeno, adulto, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 236
Figura 87: Marcación con lectina LCA en intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) colon descendente, 80 días; 40x; b) colon descendente, 216 días; 40x; c) ciego, 230 días, 63x. Etapa postnatal: d) ciego, 17 días, 40x; e) colon transverso, 15 días, 40x; f) ciego, adulto, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 237
Figura 88: Marcación con lectina PSA en el intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: a) duodeno, 80 días, 63x; b) yeyuno, 103 días, 40x; c) íleon, 330 días, 40x; d) yeyuno 334 días, 10x. Etapa postnatal: e) yeyuno, 45 días, 40x; f) íleon, adulto, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 240
Figura 89: Marcación con lectina PSA en intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) ciego, 141 días; b) ciego, 216 días. Etapa postnatal: c) colon descendente, recién nacido, d) colon descendente, 27 días; e) colon ascendente, 45 días; f) colon descendente, adulto. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 241
Figura 90: Marcación con lectina PHA-L en intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: a) duodeno, 80 días, 40x; b) yeyuno, 119 días; 63x, c) íleon, 317 días, 40x. Etapa postnatal: d) yeyuno, 1 día, 10x; e) yeyuno, 3 días, 40x; f) íleon, 43 días, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 245
Figura 91: Marcación con lectina PHA-L en intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) ciego, 334 días. Etapa postnatal: b) ciego, 10 días; c) colon ascendente, 21 días; d) colon transverso, 31 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 246

Figura 92: Marcación con lectina PHA-E en el intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: a) íleon, 80 días; b) duodeno, 141 días; c) duodeno, 325 días. Etapa postnatal: d) duodeno, recién nacido; e) yeyuno, 7 días; f) íleon, 42 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 249
Figura 93: Marcación con lectina PHA-E en el intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) ciego, 334 días. Etapa postnatal: b) ciego, 10 días; c) colon ascendente, 21 días; d) colon transverso, 31 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 250
Figura 94: Identificación de células en proliferación celular mediante inmunomarcación para PCNA en el epitelio del intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: a) duodeno, 56 días, 63x; b) duodeno, 80 días, 40x; c) yeyuno 330 días, 40x; d) íleon, 334 días, 40 días. Etapa postnatal: e) íleon, recién nacido, 40x; f) yeyuno, 2 días, 40x; g) íleon, 20 días, 40x; h) yeyuno, 45 días, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 258
Figura 95: Identificación de células en proliferación celular mediante inmunomarcación para PCNA en el epitelio del intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) colon descendente, 80 días, 40x; b) ciego, 216 días, 40x; c) colon descendente, 325 días, 40x. Etapa postnatal: d) colon ascendente, 4 días, 40x; e) colon ascendente, 18 días, 40x; f) colon descendente, 41 días, 10x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 260
Figura 96: Identificación de apoptosis mediante la prueba de túnel (Método ApopTag) en el intestino de alpacas. Etapa fetal: a) colon descendente, 80 días, 63x; b) yeyuno, 334 días, 40x; c) colon ascendente, 334 días, 40x. Etapa postnatal: d) ciego, 1 día, 40x; e) íleon, 4 días, 40x; f) duodeno, 7 días, 40x; g) ciego, 43 días, 40x; h) colon ascendente, adulto, 40x.....263

ABREVIATURAS

α-SMA:	actina de músculo liso α
5-HT:	serotonina o 5-hidroxitriptamina
AGV:	ácidos grasos volátiles
AL:	agregado linfoide
BL:	membrana basolateral
BMP:	proteína morfogénica ósea
BSA:	albúmina sérica bovina
C1:	compartimento estomacal 1
CA:	colon ascendente
CCAL:	célula caliciforme
CCK:	colecistoquinina
CD:	colon descendente
CEE:	célula enteroendocrina
Con A:	*Concanavalin A*
CP:	células de Paneth
CSA:	camélidos sudamericanos
CT:	colon transverso
D:	duodeno
DAB:	diaminobencidina
DBA:	*Dolichos biflorus*
DBP:	diámetro biparietal fetal
DS:	desvío estándar
E:	epitelio
E47:	factor tipo E47
EC:	célula enterocromafin
EGF:	factor de crecimiento epidérmico
EVF:	enterocito vacuolado fetal

FAE:	epitelio asociado a los folículos
FGF:	factor de crecimiento de fibroblastos
FKF:	factor de crecimiento de queratinocito
Fuc:	L-fucosa
G:	glicocalix
Gal:	D-Galactosa;
GalNAc:	N-Acetilgalactosamina
GB:	glándula de Brünner
Glc:	D-glucosa
GlcNAc:	N-Acetilglucosamina
GIP:	péptido inhibidor gástrico
GLP:	péptido tipo glucagon
GRP:	péptido liberador gástrico
GSL-I:	*Griffonia (Bandeiraea) simplicifolia I*
H-E:	hematoxilina eosina
HGM:	factor de transcripción High Mobility Group
Hh:	proteína Hedgehog
ICAM:	molécula de adhesión celular intercelular endotelial
IGF-1:	factor de crecimiento similar a insulina 1
IHQ:	inmunohistoquímica
IL-7R:	receptor de interleucina 7
ITF:	factor trefoil intestinal
IVITA:	Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura
Klf4:	factor tipo krüppel 4
LCA:	*Lens culinaris*
LEF:	factor mejorador linfoide
LHQ:	lectinhistoquímica
LPS:	lipopolisacárido
LRP5/6:	receptor de la lipoproteína de baja densidad 5 y 6
MALT:	tejido linfoide asociado a mucosas

MAMPs: patrones moleculares asociados a microorganismos

Man: manosa

MB: músculo de Brücke

MUC: mucina

Mx: valor máximo

NGF: factor de crecimiento nervioso

Ngn3: neurogenina 3

NLRs: receptores de dominios tipo NOD

NT: neurotensina

PAMPs: patrones moleculares asociados a patógenos

PAS-AA: ácido peryódico de Schiff – azul alcian

PCNA: antígeno nuclear de proliferación celular

PDGFRα: factor de crecimiento derivado de plaquetas α

PGE2: prostaglandina E2

PHA-E: *Phaseolus vulgaris Erythroagglutinin*

PHA-L: Phaseolus vulgaris *Leucoagglutinin*

PI3-quinasa: fosfatidil inositol 3-quinasa

PNA: *Peanuts*

PRRs: receptores de reconocimiento de patrones

PSA: *Pisum sativum*

PTK6: proteína tirosina kinasa 6

RCA-1: *Ricinus communis I*

REL: retículo endoplasmático liso

RER: retículo endoplásmico rugoso

ROS: radicales libres de oxígeno

RSPO: R spondin

SBA: *Soybean*

SENASA: Servicio Nacional de Sanidad Agraria

SJA: *Sophora japónica*

SST: somatostatina

SWGA:	*Succinylated wheat germ*
T° Amb:	temperatura ambiente,
Tcf:	factor de células T
TdT:	enzima transferasa deoxinucleotidil terminal
TFF2:	péptido Trefoil 2
TGF- α:	factor de crecimiento transformante α
Tgf-βRII:	receptor tipo II del TGF β
TGI:	tracto gastrointestinal
TLRs:	patrones de reconocimiento tipo Toll
TNF-α:	factor de necrosis tumoral tipo α
TUNEL:	terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labelling
UEA-1:	*Ulex europaeus I*
VCAM1:	molécula de adhesión celular vascular 1
VEGF:	factor de crecimiento vascular endotelial
WGA:	*Wheat gearm*
ZA:	zónula adherens
ZO:	zónula ocludens

RESUMEN

La ontogenia del epitelio intestinal se inicia desde muy temprana edad, e involucra procesos de proliferación, muerte, diferenciación y maduración celular. El presente estudio tuvo por objetivo estudiar la ontogenia del epitelio intestinal de la alpaca mediante la determinación de los procesos de morfogénesis, proliferación, diferenciación y maduración del epitelio intestinal en las diferentes etapas de desarrollo, para lo cual se utilizaron 83 animales entre fetos, crías y adultos. Se trabajaron con muestras de las diferentes porciones intestinales, en las cuales se determinó el pH de la mucosa y se tomaron muestras de cada porción intestinal que fueron colocadas en formol buferado. Las muestras fueron procesadas con técnicas histológicas, histoquímicas, de inmunohistoquímica, lectinhistoquímica y prueba de TUNEL. Se realizó un estudio morfológico y morfométrico de la mucosa intestinal, se identificaron los tipos celulares presentes en el epitelio, así como sus características y contenido celular mediante inmunohistoquímica, lectinhistoquímica y técnicas histoquímicas. Además, se identificaron células en proliferación y apoptosis en el eje cripta vellosidad en las diferentes edades. Las vellosidades y criptas se observaron desde el segundo tercio de gestación en intestino delgado y grueso. Se comprobó que las vellosidades desaparecen en el intestino grueso después del nacimiento Se determinó que el epitelio intestinal sufre cambios morfológicos desde los 46 días de gestación, pasando de un epitelio estratificado a un epitelio cilíndrico simple que recubre criptas y vellosidades a partir del segundo tercio de gestación hasta la edad adulta. Al nacimiento, el epitelio intestinal está diferenciado, con presencia de enterocitos, células caliciformes, células de Paneth y células enteroendocrinas L, K, N e I. Los transportadores de glucosa SGLT-1 y GLUT-2, se encontraron en las regiones apical y basolateral de la membrana de los enterocitos. Los diferentes tipos celulares y los transportadores de glucosa en los enterocitos fueron observados desde el primer tercio de gestación. Los patrones de glicosilación en los glicoconjugados de los enterocitos y las células caliciformes se modifican a lo largo de la ontogenia. Se concluye que la ontogenia intestinal de la alpaca es similar a la de otros mamíferos estudiados. La diferenciación epitelial se inicia en el primer tercio de gestación y se mantiene a lo largo de su vida, presentado al nacimiento un tracto intestinal con características morfológicas que indican una funcionalidad completa, característica típica de los mamíferos precociales.

Palabras claves: alpaca, ontogenia, epitelio intestinal, proliferación, glicosilación, apoptosis

SUMMARY

The ontogeny of the intestinal epithelium begins since early age, and involves processes of proliferation, death, differentiation and cell maturation. The aim of the present study was to study the ontogeny of the intestinal epithelium of the alpaca determining the processes of morphogenesis, proliferation, differentiation and maturation of the intestinal epithelium in the different stages of development. Eighty three animals were used including fetuses, offspring and adults. Different intestinal portions samples were analyzed, in which the pH of the mucosa was determined and samples were taken from each intestinal portion and were placed in buffered formalin. The samples were processed with histological, histochemical, immunohistochemical, lectinhistochemical and TUNEL test techniques. A morphological and morphometric study of the intestinal mucosa was carried out. The cell types present in the epithelium were identified as well as their characteristics and cell content by immunohistochemistry, lectinhistochemistry and histochemical techniques, as well as proliferating cells and apoptosis in the crypt villus axis in different ages. The villi and crypts were observed from the second third of gestation in the small and large intestine. The villi disappear in the large intestine after birth. The intestinal epithelium undergoes morphological changes from 46 days of gestation. Initially is a stratified epithelium but change to a simple columnar epithelium covering crypts and villi from the second third of gestation to adulthood. The intestinal epithelium is differentiated at birth with the presence of enterocytes, goblet cells, Paneth cells and L, K, N and I enteroendocrine cells. Glucose transporters SGLT-1 and GLUT-2 were found in the apical and basolateral membrane of the enterocytes. The different cell types and glucose transporters in enterocytes were observed from the first third of gestation. Glycosylation patterns in the glycoconjugates of enterocytes and goblet cells change throughout ontogeny. It is concluded that the intestinal ontogeny of the alpaca is conserved with respect to previously studied mammals. Epithelial differentiation begins in the first third of gestation and is maintained throughout life, presenting at birth an intestinal tract with morphological characteristics that indicate complete functionality, typical fate of precocial mammals.

Keywords: alpaca, ontogeny, intestinal epithelium, proliferation, glycosylation, apoptosis

I. INTRODUCCIÓN

La ganadería alpaquera es la principal actividad productiva en más del 85% de las familias campesinas de escasos recursos económicos del altiplano peruano principalmente de los departamentos de Puno y Cusco. Ellos basan su economía en la crianza o en la comercialización de estos animales y de productos derivados de ellos; principalmente para la producción de fibra destinada a la industria textil; así mismo, la carne de estos animales es aprovechada como fuente proteica en la alimentación de los pobladores; las pieles y cueros son utilizados en actividades artesanales y las heces sirven como combustible y abono para enriquecer suelos destinados para actividades agrícolas.

La crianza de alpacas tiene varias limitantes, una de las principales es la alta mortalidad en la etapa neonatal; principalmente ocasionada por enfermedades infecciosas, entre ellas, la enteritis neonatal. Esta alta mortalidad ocasiona la falta de reemplazos adecuados y por lo tanto que el crecimiento y mejoramiento del hato no sea el óptimo. Como consecuencia, hay pérdida de material genético y reducción de productos que pueden ser comercializados y que produzcan ingresos a los criadores. Todo esto conlleva la necesidad de programas de prevención y control de enfermedades infecciosas, para lo cual es necesario conocer y entender la fisiología digestiva, partiendo de la estructura del epitelio intestinal y sus mecanismos de desarrollo y proliferación.

El epitelio intestinal es una de las principales barreras de defensa con las que cuenta el animal, su ontogenia, depende de factores intrínsecos y extrínsecos cuya interrelación puede determinar el desarrollo normal del animal o predisponer a este, a enfermedades desde muy temprana edad, como la enteritis neonatal en alpacas. A pesar de la importancia del tracto digestivo de la alpaca, son pocos los estudios sobre su morfología y fisiología que permitan

comprender el funcionamiento del tracto digestivo, en especial del epitelio intestinal base indispensable para posteriores estudios de fisiología y fisiopatología digestiva, nutrición y alimentación y, de esta manera, plantear mejoras en los sistemas sanitarios de las crías, que son las más vulnerables, como se señaló, a problemas entéricos; por tal motivo, se planteó el presente estudio con el objetivo de estudiar la ontogenia del epitelio intestinal de la alpaca.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 GENERALIDADES SOBRE CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS

Los primeros registros fósiles de camélidos son de América del Norte y datan de hace alrededor de 40.000.000 años, en el eoceno medio, estos restos corresponden a la especie que parece ser el antecesor común (Protilopus petersoni); luego se originaron dos tribus Lamini y Camelini. Hace 3.000.000 millones de años, la tribu Camelini inició su migración hacia Asia y Europa a través del Estrecho de Bering, dando origen a los camélidos del viejo mundo, el bactriano y el dromedario (Webb, 1974). Mientras que los descendientes de la tribu Lamini, migraron hacia América del Sur, a través del Istmo de Panamá; de allí surgieron el guanaco y la vicuña, hace aproximadamente 2.000.000 de años (Cabrera, 1932). Los factores ambientales como ciertos cambios climáticos, por ejemplo el enfriamiento del polo norte y, especialmente, la depredación por parte de los primeros seres humanos que poblaron América llevaron a la extinción de los camélidos en América del Norte (Franklin, 1982; Fowler y Bravo, 2010).

La familia Camelidae cuenta hoy con cuatro especies americanas, dos domésticas: la llama (*Lama glama*) y la alpaca (*Vicugna pacos*) y dos silvestres: el guanaco (*Lama guanicoe*) y la vicuña (*Vicugna vicugna*) (Kadwell *et al.,* 2001). La llama se originó por la domesticación del guanaco y la alpaca deriva de la vicuña (Wheeler *et al*., 2001). Los camélidos sudamericanos (CSA) pertenecen a la clase Mammalia, orden Artiodactyla suborden Tylopoda, a diferencia de los rumiantes verdaderos como cérvidos, bóvidos y óvidos que pertenecen al suborden Ruminantia. Ambos subórdenes evolucionaron paralelamente y su capacidad de rumiar (regurgitar y volver a masticar el alimento consumido) es una convergencia evolutiva (Webb,

1974; San Martin y Bryant, 1989; Sponheimer *et al.,* 2003; Fowler, 2008). La alpaca se domesticó en los Andes centrales del Perú hace 6000 a 7000 años, mientras que la llama parece haberse originado por múltiples centros de domesticación localizados en el noroeste argentino, norte de Chile y los Andes Centrales del Perú, este proceso culminó hace 4000 a 4600 años (Wheeler *et al.,* 2001).

Los CSA constituyen un recurso de gran valor económico, social, cultural y científico para el Perú; que es el principal productor de alpacas (*Vicugna pacos*) del mundo (Quispe *et al.,* 2009), con una población promedio de 4.350.000 (MINAGRI, 2019), distribuidos principalmente en Puno (55%), Cuzco (12%), Arequipa (10%) y Huancavelica (6%). El 85% de los animales se encuentra en manos de pequeños productores bajo un sistema de crianza extensiva (INEI, 2012), que abastece el 82% de la demanda mundial de fibra, con ingresos económicos para los pobladores altoandinos, que se incrementan por la venta de carne y reproductores (Fernández Baca, 2005); sin embargo, la presentación de enfermedades infecciosas es un factor limitante para su desarrollo, porque presentan un alto índice de mortalidad (Bustinza, 2001; Rosadio *et al.,* 2012).

Los CSA pueden considerarse los mamíferos mejor adaptados a la altura (Giussani *et al.,* 1999). Su hábitat se caracteriza por vientos de gran velocidad, grandes diferencias entre la temperatura diurna y nocturna, alternancia de meses con grandes lluvias y meses de sequías, suelos rocosos e inclinados con hielo y nieve, excesiva radiación solar, baja presión de oxígeno y, por supuesto, escasez de agua y alimentos. Estas especies deben comer las escasas plantas leñosas que crecen en ciertos lugares. Los CSA son los animales termorreguladores más estables (Bligh y Sumar, 1988); su cuerpo está cubierto por pelos de diferente grosor, regulan la conductancia calórica por medio de la postura corporal y en condiciones extremas de frío se agrupan. Un 40% de su cuerpo está cubierto por un pelo muy denso que lo protege de las bajas temperaturas, pero el 20%, correspondiente al vientre, está casi desnudo y permite la pérdida de calor, incluso puede sumergirse en el agua para perder calor por el mecanismo de conducción (Schmidt-Nielsen, 1987). Tienen una mejor adaptación a épocas de sequía, esto debido a que son capaces de regular sus volúmenes de agua corporal que disminuye en épocas secas y aumenta en época de lluvias (Marcilese *et al*., 1994); así mismo, poseen la capacidad de concentrar su orina, debido a la alta reabsorción de ácido úrico en túbulos renales, lo cual permite una mayor reabsorción de agua manteniendo los niveles homeostáticos del animal (Bakker *et al.,* 1996).

Los CSA para poder vivir a alturas que alcanzan los 5000 metros poseen numerosas adaptaciones a la hipoxia crónica; entre ellas se destaca que sus eritrocitos son elípticos, más pequeños y más numerosos que en otros mamíferos; además, hay una mayor afinidad de la hemoglobina por el oxígeno y esta se encuentra en mayor concentración (Copaira, 1952; Oblitas *et al*., 1998; Azwai *et al*., 2007). La conformación de su cuerpo, especialmente de sus extremidades, facilita que puedan movilizarse con un bajo consumo de energía, lo que es importante en condiciones de hipoxia (Fernández Baca, 2005).

El sistema digestivo de los CSA está adaptado a la escasez de los recursos y a poder obtener nutrientes de los pastos lignificados. Para favorecer la prehensión y selección del alimento, poseen labios delgados y con un philtrum muy marcado, lo que los hace muy móviles (De La Vega, 1952), poseen dientes incisivos de crecimiento continuo por su gran desgaste (Fernández-Baca, 1962). La eficiencia de conversión alimenticia es 58% mejor que en el ovino, debido a que realizan un proceso digestivo más prolongado permitiendo una mejor utilización de los nutrientes (San Martin y Bryant, 1989; Sponheimer *et al.,* 2003; Davies *et al.* 2007; San Martín y Van Saun, 2014), además posee un mejor sistema de reutilización de la urea, insumo que la microbiota de los compartimentos estomacales utilizan como fuente de nitrógeno para producir proteína, en condiciones de que el alimento consumido tiene niveles bajos de este nutriente (Van Saun, 2006; Cabezas *et al*., 2007). Son clasificados dentro del grupo de rumiantes intermediarios o también llamados alimentadores mixtos oportunistas, que presentan la particularidad de adaptarse fácilmente a una dieta mixta pero que evitan la mayor parte de tiempo los alimentos fibrosos (hacen selección del forraje); presentan una doble fermentación, una primera en compartimentos estomacales y una segunda en ciego y colon (Sumar, 2010; San Martin, 2015)

Los CSA obtienen su energía de los ácidos grasos volátiles, así como de la glucosa y la urea. Presentan una alta normoglucemia, debida a la menor utilización de la glucosa por parte de los tejidos, generada por una débil respuesta y una resistencia parcial a la insulina, sin consecuencias para la salud del animal (Vallenas, 1956; Llerena, 1983; Burton *et al.,* 2003; Ueda *et al*., 2004; Van Saun, 2006; Siguas *et al.,* 2007; Rodríguez *et al.,* 2016). En la génesis de esta elevada normoglucemia, también interviene la gluconeogénesis que ocurre a partir de los aminoácidos generados en el estómago por los microorganismos celulolíticos, que también genera una elevada concentración de urea. Esta característica de utilización de la glucosa y la urea, los diferencia de los rumiantes que obtienen su energía fundamentalmente de los ácidos grasos volátiles como el propionato (Vallenas *et al.,* 1973).

Desde el punto de vista reproductivo, los CSA tienen un intervalo generacional largo, debido a que llegan a la pubertad entre uno y tres años de edad, al alcanzar la mitad de su peso corporal adulto (Sumar, 1999) y presentan gestación larga y de una sola cría (Vaughan, 2012). En su hábitat natural, su reproducción es estacional y se da durante la época de lluvias (Trasorras y Miragaya, 2012). No existe un ciclo estral típico por que la fase folicular es continua (Bravo, 2002); si la hembra no se aparea presenta ondas foliculares continuas (Sumar, 1999), permaneciendo en estro entre 35 y 40 días (Aba, 2014). Se considera que la ovulación es inducida por el coito y ocurre 30 h después de la cópula (Bravo *et al*., 1991; Adams y Ratto, 2001), sin embargo la ovulación es independiente a los estímulos físicos de la cópula, y es el plasma seminal quien induce la respuesta ovulatoria y luteotrópica (Adams *et al.,* 2005; Ratto *et al.,* 2005),

La ovulación ocurre en ambos ovarios en porcentajes idénticos, pero el embrión se implanta en más del 90% de los casos en el cuerno uterino izquierdo, que es el de mayor tamaño (Fernández Baca *et al.,* 1973; Bravo *et al*., 2000), característica que ya se observa en la etapa fetal (Mendoza *et al.,* 2013). Los embriones de CSA desarrollan más rápido que los de los rumiantes domésticos y a los 7-8 días post apareamiento han migrado al útero (Del Campo *et al.,* 1995; Aba *et al.,* 1997). Los embriones fecundados en el cuerno derecho, migran hacia el izquierdo en los primeros días y hacia el día 9-10 post ovulación todos los embriones se encuentran en el cuerno uterino izquierdo (Picha *et al*., 2013). El período de gestación es de 340 a 346 días para la alpaca (Bonacic, 1991; Sumar 1999); las crías son precociales, nacen con un estado avanzado de desarrollo, y con un peso de 4 a 10 kg (Bravo, 2015).

Las crías recién nacidas son susceptibles a presentar enfermedades entéricas; diferentes microorganismos pueden infectar a las crías y producir enfermedades con alta mortalidad y/o morbilidad, tal es el caso del *Clostridium perfringens*, que causa enterotoxemia, que es una infección aguda y causa la muerte de crías entre la segunda y tercera semana de vida con mortalidades que pueden ser superiores al 50% (Ramírez *et al.,* 1985; Moro, 1987; Ramírez, 1989; 1990; Ameghino y De Martini, 1991). La infección por cepas de *Escherichia coli* enteropatógena (Ramírez *et al*., 1985) origina cuadros de colibacilosis, con un índice de mortalidad entre el 15 al 20% y con emaciación grave en los animales que sobreviven (Moro, 1956). También existen infecciones virales, como la producida por rotavirus, que tiene una incidencia del 9.3% (Morales *et al.,* 2007) y cuadros de eimeriosis, por *Eimeria macusaniensis* y *Eimeria lamae*, que pueden lesionar la mucosa y permitir el ingreso de *Clostridium perfringens* y causar cuadros severos de enterotoxemia o cuadro entérico neonatal (Palacios *et al.,* 2004; Rosadio *et al*., 2010).

El cuadro entérico neonatal o síndrome entérico neonatal es producido por la infección mixta entre diferentes agentes causales tales como *Clostridium sp, Escherichia coli*, eimerias, rotavirus, Cryptosporidium, etc., este tipo de infección es el más frecuente en crías en la etapa neonatal (Rosadio *et al.,* 2012). Las lesiones que se observan en los animales con cuadros entéricos van desde una enteritis catarral en las diferentes porciones intestinales a una enteritis necrótica hemorrágica, principalmente en yeyuno e íleon; con descamación epitelial, edema, inflamación y necrosis acompañada muchas veces de hiperplasia glandular, siendo estas lesiones más severas en el yeyuno medio y final (Palacios *et al.,* 2005). El daño intestinal produce grandes pérdidas económicas, no sólo por la muerte de los animales y la disminución de la producción y productividad, sino también por la pérdida de valioso potencial genético, así como por la falta de recambio de los reproductores (Bustinza, 2001); siendo necesario reducir la incidencia de estas enfermedades, así como su impacto en el animal, para lo cual se deben desarrollar métodos efectivos que ayuden a la prevención de enfermedades y a su control.

2.2 CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES DEL SISTEMA DIGESTIVO DE LOS CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS

Los CSA poseen características biológicas peculiares, los compartimentos estomacales presentan las mayores diferencias en comparación a otras especies domésticas y se considera que son altamente adaptados a su habitad en grandes alturas (De la Vega, 1952; Vallenas, 1965; Vallenas y Stevens 1971a, b; Vater y Maierl, 2018). Presentan un sistema digestivo conformado por un tubo que comprende boca, faringe, esófago, estómago, intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon) e intestino grueso (ciego, colon, recto y conducto anal); los órganos anexos son glándulas salivales, páncreas e hígado (De la Vega, 1952; Vallenas, 1991; Fowler y Bravo, 2010).

2.2.1 Estómago

Los camélidos sudamericanos poseen 3 compartimentos estomacales, con sacos glandulares en el compartimento 1 y 2 (Vallenas *et al.,* 1973), estos sacos glandulares secretan grandes cantidades de fosfato y bicarbonato (Eckerlin y Stevens, 1973; Rübsamen y Engelhardt, 1978), que provee un gran sistema tampón en los compartimentos estomacales, más eficiente que el que poseen los ovinos (Vallenas *et al.,* 1973), así mismo la secreción salival es abundante y también contiene grandes cantidades de bicarbonato (Ortiz *et al.,* 1974). El compartimento 3 es similar al estómago glandular típico de todos los mamíferos.

2.2.2 Porciones Intestinales

El intestino de las alpacas está dividido en intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon) e intestino grueso (ciego, colon, recto y canal anal) (Van Hoogmoed *et al*., 1998; Fowler y Bravo, 2010). El intestino de la alpaca adulta tiene una longitud aproximada total de 21 a 24 m, de los cuales 13,4 m corresponden al intestino delgado y 9,5 m al intestino grueso (Sato *et al.,* 1968; Vater y Maierl, 2018), con un diámetro promedio de 2 a 3 cm (Sato y Montoya, 1989). En crías, en los primeros 45 días de edad, se da un rápido desarrollo del intestino, duplicando su longitud, principalmente el yeyuno que es el que más se desarrolla en esta etapa (Paredes, 2010).

Intestino delgado: Anatómicamente, el intestino delgado de las alpacas es similar al de los ovinos (Sato *et al*., 1968; Gusmán, 1970). Es un tubo largo compuesto por el duodeno, yeyuno e íleon. Conecta el estómago glandular (compartimento 3) con el intestino grueso, se inicia en el píloro y termina en el orificio ileocecal (Sato y Montoya, 1989; Heath, 1996).

El duodeno es la primera porción del intestino delgado. En el momento del nacimiento mide aproximadamente 25 cm (Paredes, 2010) y crece hasta medir aproximadamente de 50 a 150 cm de longitud en alpacas adultas (De la Vega, 1952; Vater y Maierl, 2018), según el tamaño del animal. Comienza en el píloro y presenta una dilatación de 8 a 12 cm, la ampolla duodenal, en su porción inicial, que es una constricción que reduce significativamente el lumen (Montalvo, 1966; Sato y Montoya, 1989; Vater y Maierl, 2018). Esta porción del intestino se ubica en el lado derecho del compartimento estomacal 1 (C1) hacia la zona dorsal de la cavidad abdominal, caudal al hígado (Fowler y Bravo, 2010), pasando del plano derecho al izquierdo por detrás de la arteria mesentérica craneal (Sato y Montoya, 1989). Macroscópicamente se puede observar la formación de pliegues circulares (plicae circulares) de la mucosa que son más numerosos hacia el yeyuno y más prominentes en la región opuesta a la inserción del mesenterio (Montalvo, 1966).

El yeyuno es la segunda porción del intestino delgado, es la más larga, mide 60 cm aproximadamente en alpacas recién nacidas (Paredes, 2010) y alcanza entre 12 y 14 m en animales adultos (De la Vega, 1952; Vater y Maierl, 2018). El yeyuno a lo largo de su recorrido genera en la parte caudal derecha del abdomen asas intestinales en forma de U, que se localizan alrededor de la raíz del mesenterio (Sato y Montoya, 1989; Fernández Baca, 1991). Posee agregados linfoides o placas de Peyer que tienen una forma redondeada u ovalada y plana con diámetros de 5 a 8 mm (Montalvo, 1966).

El íleon es la última porción del intestino delgado, su longitud va desde los 8 cm en crías recién nacidas (Paredes, 2010) hasta 80-100 cm en alpacas adultas (Sato y Montoya, 1989).

Descansa sobre las asas yeyunales en la parte superior de la pared abdominal ventral. Se dirige por la parte media dorsal hasta el orificio ileocecal para comunicarse con el intestino grueso (Sato y Montoya, 1989; Fernández Baca, 1991; Vater y Maierl, 2018). Los pliegues circulares disminuyen en forma considerable conforme se acercan a la unión ileocecal, mientras que las placas de Peyer aumentan en número y tamaño, adquiriendo la forma de nidos o cráteres en la región cercana al ciego (Montalvo, 1966).

Intestino Grueso: En los CSA, el intestino grueso se inicia en el orificio ileocecal y se prolonga hasta el ano, con una longitud aproximada de 9,50 m y un diámetro de 5 cm; anatómicamente lo podemos dividir en 4 porciones: ciego, colon, recto y canal anal (Sato y Montoya, 1989, ICVGAN, 2017).

El ciego es la primera porción del intestino grueso, es un saco ciego que mide entre 10 y 20 cm de longitud y aproximadamente 7 cm de diámetro en promedio (Sato *et al.*, 1968; Sato y Montoya, 1989; Vater y Maierl, 2018). Paredes (2010), encontró en crías de alpacas, ciegos con longitudes que van desde los 5,5 cm al nacimiento, hasta los 20 cm a los 45 días de edad. El ciego descansa sobre la línea media y se dirige caudalmente hacia la entrada de la pelvis, en algunos casos puede curvarse de forma ventral y lateral hacia la izquierda (Sato *et al.,* 1968; Sato y Montoya, 1989). Macroscópicamente se pueden observar placas de Peyer de gran tamaño y de forma diversa, mientras que los pliegues circulares no se observan a simple vista y la mucosa se ve casi lisa (Montalvo, 1966).

El colon es la segunda porción del intestino grueso, se origina cerca al orificio ileocecal y se prolonga hasta el recto. El colon de los camélidos es similar al de los rumiantes verdaderos; se divide en 3 porciones: colon ascendente (CA), colon transverso (CT) y colon descendente (CD) (Sato y Montoya, 1989; Fowler y Bravo, 2010). El colon ascendente tiene una estructura característica, con asas de disposición espiralada, que se organizan en giros centrípetos y cambia hacia giros centrífugos (Vater y Maierl, 2018). Macroscópicamente se puede observar que la mucosa presenta pliegues longitudinales y placas de Peyer de gran tamaño, principalmente en la porción apical del colon ascendente, disminuyendo en número hacia caudal (Montalvo, 1966). San Martín y Bryant, (1988) describen que el tiempo de retención de la digesta en el colon de llamas es de aproximadamente 11 horas, lo cual es concordante con una mayor fermentación microbiana que en otros herbívoros, lo que permite que se produzcan concentraciones elevadas de ácidos grasos volátiles (AGV) y que se mantengan por un tiempo más prolongado, sugiriendo que los CSA dan un mejor uso a los alimentos de baja calidad o de alto contenido ligno-celulósico

que los rumiantes verdaderos (Fernández Baca, 1991); así mismo el colon juega un rol importante en la reabsorción de agua (Whitehead, 2013).

El colon ascendente está compuesto por el asa proximal, el asa espiral (pliegues centrípetos, flexura central y pliegues centrífugos) y asa distal (Sato y Montoya, 1989), mide aproximadamente 336 cm en crías de 45 días de edad (Paredes, 2010) y llega a medir entre 5,8 a 7,7 m en alpacas adultas (Vater y Maierl, 2018). El asa proximal se inicia como continuación del ciego en el plano derecho, recorre de forma craneal y ventral hasta el asa espiral; el mesenterio une débilmente el asa proximal a las asas espirales, que son compactas (Sato y Montoya, 1989; Fowler y Bravo 2010).

El asa espiral del colon, está formada por 4-5 pliegues centrípetos y 4-5 pliegues centrífugos, ubicados uno encima del otro como una pirámide (Vater y Maierl, 2018), lo cual difiere de bovinos y ovinos que poseen 2 y 3 pliegues respectivamente; esta asa espiral se ubica sobre la pared abdominal medio ventral; mientras que la última porción del pliegue centrífugo da inicio al asa distal y se ubica al lado izquierdo del mesenterio del yeyuno (De la Vega, 1952; Sato y Montoya, 1989; Vater y Maierl, 2018), por detrás de la arteria mesentérica craneal (Fernández Baca, 1991), luego gira dorsalmente hasta el nivel del duodeno y discurre cranealmente, conectado a la raíz mesentérica en su lado izquierdo y a la porción descendente del duodeno en su lado derecho (Vater y Maierl, 2018).

El colon transverso es la porción de colon que cambia del plano derecho al plano izquierdo, se ubica craneal a la arteria mesentérica y comunica con el colon descendente (Sato y Montoya, 1989), mide 11 cm en crías menores a 45 días de edad y 30 a 50 cm en adultos; mientras que el colon descendente es la porción que une al colon con el recto, mide un promedio de 59 cm en crías menores de 45 días, su tamaño es muy parecido en adultos, siendo esta porción la que menos modificación en cuanto a longitud tiene (Paredes, 2010; Vater y Maierl, 2018). El colon descendente está fijado a la pared abdominal dorsal por un corto mesenterio que se alarga justo antes de ingresar a la cavidad pélvica, formando la flexura sigmoidea, dentro de la cavidad pélvica el colon descendente está recubierto de tejido adiposo (Vater y Maierl, 2018).

El recto presenta un diámetro interno mayor que el resto del intestino grueso, con paredes más gruesas; tiene una longitud de 6 a 7 cm en alpacas adultas y está cubierto por peritoneo (Vater y Maierl, 2018); la mucosa posee pliegues longitudinales visibles y escasos linfonódulos aislados. El canal anal es la última porción del intestino grueso y conecta el recto con el ano, tiene pliegues

longitudinales o elevaciones de la capa mucosa, la zona inferior tiene pliegues de mucosa llamados válvulas anales (Montalvo, 1966).

2.3 ESTRUCTURA HISTOLÓGICA DEL INTESTINO

El intestino es el responsable de los procesos de absorción de nutrientes, excreción de desechos y es considerado una gran barrera de defensa del organismo. El intestino tiene mecanismos intrínsecos para expandir el área absortiva, así como mecanismos celulares especializados para el proceso de absorción de nutrientes y para interactuar con la microbiota presente en el lumen (Chin *et al*., 2017).

La pared intestinal en todas las especies, incluyendo la alpaca, está formada por 4 túnicas que son desde la luz hacia el exterior: mucosa, submucosa, muscular y serosa. La mucosa contiene el epitelio, la lámina propia y la muscular de la mucosa. La submucosa, que contiene los vasos más grandes y el plexo submucoso de Meissner. La túnica muscular está formada por la capa circular interna y la capa longitudinal externa, entre ambas, se observan los plexos mientéricos o de Aüerbach. La túnica más externa de la pared intestinal es la serosa, la cual cubre todo el intestino y es el lugar donde se alojan los vasos y nervios que atraviesan la pared intestinal (Montalvo, 1966; Checcnes, 2014; Ross, 2015).

2.3.1 Intestino delgado

El intestino delgado cumple las funciones de digestión, secreción y absorción de nutrientes; funciones que se ven facilitadas por la gran superficie de la mucosa intestinal, lo cual está amplificada por la presencia de pliegues circulares que sobresalen del piso del intestino, las vellosidades intestinales que son proyecciones de la mucosa y las microvellosidades de las células epiteliales (Rizvi y Wong, 2005; Ross, 2015).

La mucosa del intestino delgado forma evaginaciones o proyecciones digitiformes que se conocen como vellosidades que se extienden hacia la luz intestinal, son de mayor longitud en el yeyuno y de menor longitud en el íleon (Bello *et al.,* 2012); cubren toda la superficie del intestino delgado, su función es ampliar el área absortiva (Montalvo, 1966; Elliott y Kaestner, 2015). Las vellosidades se encuentran revestidas por un epitelio cilíndrico simple, formado por una capa continua de células (Cheng y Leblond, 1974; Gerbe *et al*., 2011), las cuales se encuentran unidas entre ellas por uniones estrechas, que le permite transportar nutrientes de forma selectiva por vía transcelular y reducir al máximo el transporte por la vía intercelular que es mucho menos selectiva (Elliott y Kaestner, 2015).

Las vellosidades tienen forma de dedo en perros y caballos, en cambio es variable en otras especies (Bello *et al*., 2012) como en la alpaca, donde se describe que en el duodeno tienen forma cónica alargada con el vértice redondeado; en el yeyuno son cónicas con puntas redondeadas en forma de dedo y en el íleon se van acortando conforme se acerca al ciego, para adquirir una forma de mazo con la base ancha (Montalvo (1966).

El centro de la vellosidad es una extensión de la lámina propia que contiene abundantes fibroblastos, linfocitos, plasmocitos, eosinófilos, macrófagos y una red de capilares sanguíneos fenestrados que están por fuera de la lámina basal del epitelio. Su anatomía vascular es compleja, una o dos arteriolas no ramificadas, procedentes de la submucosa se dirigen hacia la parte superior de la vellosidad, donde se ramifican para formar una densa red de vasos subepiteliales que desembocan en las vénulas a diferentes niveles. Esta disposición provee un adecuado flujo de sangre en toda la extensión de la vellosidad y proporciona una abundante superficie para la incorporación de nutrientes absorbidos por los enterocitos (Pascual *et al.,* 2001).

Adicionalmente, las v ellosidades poseen un capilar linfático que se denomina quilífero central, el cual se origina localmente en un fondo de saco ciego. También encontramos en el centro de la vellosidad fibras musculares lisas (músculo de Brücke) que son una proyección de la muscular de la mucosa y acompañan al vaso quilífero, estas serían las responsables del acortamiento intermitente de las vellosidades y de impulsar la linfa desde los vasos quilíferos hacia la red de vasos linfáticos (Ferrufino *et al*., 1996; Ross, 2015).

Entre las vellosidades, el epitelio se invagina dentro de la lámina propia para formar las criptas o glándulas intestinales conocidas también como criptas de Lieberkühn, las cuales son invaginaciones simples ramificadas y tubulares que penetran la mucosa desde la base de las vellosidades, a través de todo el espesor de la lámina propia hasta la muscular de la mucosa. Están compuestas de un epitelio cilíndrico simple que se continúa con el epitelio de las vellosidades, como parte del eje cripta vellosidad. Este epitelio está formado por enterocitos, células caliciformes (CCAL), células enteroendocrinas, células de Paneth (CP), células sensitivas y células madre (Gerbe *et al.,* 2012, Clevers, 2013).

Cada vellosidad recibe células de 6 a 10 criptas diferentes. Hacia la zona craneal del duodeno se observa un mayor número de criptas, en yeyuno estas criptas son mucho más profundas, mientras que en el íleon son dilatadas y ramificadas (Banks, 1996; Dutta *et al*., 2011). En alpacas, las criptas de Lieberkhün son de forma tubular con curso algo sinuoso, y en el íleon son bastante cortas. En duodeno e íleon están revestidas por un epitelio de células cilíndricas de

tipo mucoso menos altas que en las vellosidades a diferencia del íleon donde son altas. Tienen un mayor número de CCAL, presentan uniones estrechas, pero no chapa estriada, excepto en el área cerca de la desembocadura (Montalvo, 1966).

En las criptas se puede identificar enterocitos, CCAL, células enteroendocrinas, CP, así como células madre y células en proceso de diferenciación. Las CP se ubican en la base de la cripta y las células madre se ubican hacia el inicio de la cripta siendo estas las que dan origen a los distintos tipos celulares de la cripta y la vellosidad (Ross *et al.,* 2005). Hacia la desembocadura de la cripta encontramos células en tránsito que todavía pueden dividirse, pero no auto renovarse y luego células que van adquiriendo las características diferenciales de enterocitos, CCAL, enteroendocrinas y sensitivas a medida que migran hacia la parte superior de las vellosidades. Al final, las células entran en un proceso de apoptosis, que por poseer algunas particularidades es conocido como anoiquis y se desprenden desde la parte superior de la vellosidad (Gunther *et al.,* 2013). El periodo comprendido entre el nacimiento de la célula y su muerte es de 4 a 6 días en el ser humano, a excepción de las CP que se diferencian y migran hacia la base de la cripta y tienen un tiempo de vida mayor (Stinson y Calhoun, 1996; Geneser, 2000; Pascual *et al*., 2001; Ross *et al*., 2005; Grün *et al*., 2015).

Los enterocitos son las células epiteliales más abundantes, y se encuentran distribuidos a lo largo de la vellosidad cumpliendo la función de absorción de nutrientes y agua (Buendía *et al*., 2004; Eroschenko, 2008; Okamoto *et al.,* 2008; Sepúlveda, 2012; Ross, 2015); estas células poseen en su membrana apical proteínas transportadoras, además de microvellosidades con un glicocalix muy abundante y un citoesqueleto muy organizado (Keller y Mooseker, 2011; Ross, 2015).

Las CCAL, producen una secreción rica en mucinas que sirve para la lubricación del contenido, la amortiguación del pH y la protección del epitelio por formación de la barrera mucosa intestinal (Allaire *et al.,* 2018b). Las células enteroendocrinas (CEE) que se encuentran distribuidas en el epitelio intestinal, son las encargadas de secretar hormonas que regulan diversos procesos de secreción y absorción en el tracto gastrointestinal, ingestión de alimento, regulación de los niveles de glucosa pospandrial y el metabolismo del animal (Latorre *et al*., 2016; Gribble y Reimann, 2019). A esta función secretora de la mucosa se une la secreción de las células serosas y mucosas ubicadas en las glándulas de Brünner que se distribuyen en la submucosa del duodeno y desembocan hacia la luz del intestino (Krause, 2000; Verdiglione y Montesi, 2019).

La mucosa constituye una barrera de protección que separa la luz del tubo digestivo del resto del organismo, esto se conoce como barrera intestinal, que tiene la función de proteger al individuo del ingreso de antígenos, agentes patógenos y sustancias nocivas; siendo posiblemente esta una de las funciones más importantes. En esta función intervienen los diferentes tipos celulares del epitelio intestinal, tal es el caso de los enterocitos que al unirse entre ellos por uniones estrechas no permiten el pasaje de microorganismos o sus productos hacia la lámina propia, siendo esta la primera barrera física de defensa (Hooper, 2015). Por otro lado, los diferentes tipos celulares secretan proteínas antimicrobianas, inhibiendo de esta manera la invasión de microorganismos (Benjamin *et al.,* 2013; Conway *et al.,* 2013; Wlodarska *et al*., 2014), producen citoquinas para coordinar la respuesta de las células del sistema inmune sub epiteliales y transportan inmunoglobulina A secretora de la superficie basolateral hacia la superficie apical del epitelio (Macpherson *et al.,* 2000).

Las CCAL a través de sus secreciones forman parte de esta barrera física porque las mucinas dificultan el contacto entre las bacterias y la superficie luminal del epitelio (Birchenough *et al*., 2015); así mismo también tenemos a las CP que juegan un rol importante, debido a que las sustancias que secretan son las encargadas de regular la microbiota y participar en el mantenimiento del microambiente intestinal (Yokoi *et al.,* 2019). La función de barrera del epitelio intestinal se suma a la presencia de tejido linfoide asociado a mucosas (MALT) que está compuesto por las placas de Peyer que se encuentran en la submucosa, células presentadoras de antígenos y linfocitos que se encuentran en forma difusa en la lámina propia y linfocitos intraepiteliales (Fagarasan y Honjo, 2003).

La lámina propia es una capa de tejido conjuntivo laxo, se proyecta hacia las vellosidades formando la parte central de las vellosidades y rodea las criptas intestinales (Ferrufino *et al.,* 1996; Eurell y Frappier, 2006). Contiene fibras colágenas y elásticas que se encuentran sostenidas por una trama de fibras reticulares (Eurell y Frappier, 2006). Además, se encuentra gran cantidad de tejido linfoide difuso (O´Leary y Sweeney, 1987), vasos sanguíneos, elementos celulares y células musculares lisas (Sepúlveda, 2012). El tejido linfoide es de tipo difuso y organizado en linfonódulos, estos últimos se hacen más abundantes hacia caudal (O´Leary y Sweeney, 1987; Buendía *et al.,* 2004; Mestecky, 2005) y tiende a ubicarse en el borde antimesentérico (lado opuesto de la inserción del mesenterio) (Geneser, 2000; Ross *et al*., 2005; Ross, 2015). Es una barrera inmunológica integrada, que protege al organismo de agentes patógenos y sustancias antigénicas que podrían atravesar la mucosa desde la luz del tubo digestivo, así mismo su

activación está coordinada con la acción de células del epitelio intestinal (Ramiro-Puig *et al*., 2008).

La muscular de la mucosa está formada por células musculares lisas y fibras elásticas dispuestas en una capa circular interna y una capa longitudinal externa. Presenta proyecciones hacia las vellosidades. La contracción de esta capa muscular produce el movimiento de la mucosa para formar crestas y depresiones que facilitan los procesos absortivos y secretores. Este movimiento focalizado de la mucosa es independiente del movimiento peristáltico de toda la pared del tubo digestivo (Buendía *et al*., 2004; Eurell y Frappier, 2006; Ross, 2015).

En alpacas, la muscular de la mucosa del duodeno contiene fibras musculares lisas mezcladas con fibras colágenas, que discurren en sentido longitudinal, la continuidad de este estrato se rompe por la incursión de las glándulas duodenales o de Brünner. En el yeyuno, es delgada y está formada de 4 o 5 filas de fibras musculares lisas, que corre longitudinalmente acompañada de fibras colágenas, de las cuales algunas fibras musculares se internalizan en el corion. En el íleon la muscular de la mucosa se hace más gruesa con un mayor número de fibras elásticas (Montalvo, 1966).

La submucosa es una capa de tejido conjuntivo denso no modelado, que tiene haces de fibras colágenas y elásticas, está ubicada entre la muscular de la mucosa y la túnica muscular (Göke *et al.,* 1998). Contiene vasos sanguíneos de mayor calibre que los de la lámina propia, que envían ramas hacia la mucosa, la muscular externa y la serosa; también se encuentran vasos linfáticos y una red de fibras nerviosas amielínicas y células ganglionares organizadas en el plexo submucoso o de Meissner (Mestecky, 2005; Mazzone y Farrugia, 2007), que es una extensa red nerviosa ubicada en la submucosa que contiene fibras sensitivas viscerales de origen principalmente simpático, ganglios parasimpáticos (terminales), y fibras nerviosas parasimpáticas preganglionares y posganglionares. Los somas de las neuronas ganglionares parasimpáticas y sus fibras nerviosas posganglionares forman parte del sistema nervioso entérico, que es una división del sistema nervioso autónomo y tiene a su cargo la inervación de las capas musculares lisas del tubo digestivo y puede funcionar de manera independiente del sistema nervioso central (Heanue y Pachnis, 2007; Mazzone y Farrugia, 2007; Sepúlveda, 2012).

A lo largo del intestino, la submucosa forma pliegues circulares, conocidos como plicas circulares, válvulas conniventes o válvulas de Kerckring, que son pliegues de la submucosa con orientación circunferencial, que están presentes en mayor número en el yeyuno proximal, disminuyendo hacia caudal. Estos pliegues aumentan la superficie hasta 3 veces. En rumiantes y

alpacas son permanentes a diferencia de lo que ocurre en otros mamíferos en los cuales se observan de forma transitoria (Montalvo, 1966; Ross, 2015).

En la submucosa del duodeno se encuentran glándulas túbulo alveolares o túbulo acinosas llamadas también glándulas de Brünner, las cuales se abren en la base de las criptas (Stinson y Calhoun, 1996; Sepúlveda, 2012; Ross, 2015). En rumiantes y alpacas estas glándulas presentan células mucosas de forma piramidal, con núcleo basal, de forma ovalada, redondeada o achatada, dependiendo su posición del momento funcional de la célula (Montalvo, 1966). En el caso del conejo y caballo sus adenómeros son de tipo mixto (seroso y mucoso), en el ratón son de tipo seroso y en el humano de tipo mucoso. Los adenómeros glandulares expulsan su contenido hacia la luz intestinal a través de orificios localizados en las criptas intestinales o hacia la base de las vellosidades. El conducto excretor de las glándulas de Brünner está formado por células cúbicas con un núcleo redondeado basal (Martin, 1954; Leeson y Leeson 1967; Takehana y Abe, 1987; Takehana *et al*., 1991; Krause, 2000).

La túnica muscular está formada por dos capas concéntricas de músculo liso relativamente gruesas y dispuestas perpendicularmente entre sí. La interna se dispone de manera circular y la externa de forma longitudinal. La capa interna o circular forma una espiral apretada, mientras que la capa externa o longitudinal describe una espiral laxa. Entre las dos capas musculares hay una delgada lámina de tejido conjuntivo donde se encuentran vasos sanguíneos y linfáticos (Olsson y Holmgren 2001; Gabella, 2012; Campbell, 2015), así también se encuentra el plexo nervioso mientérico o de Aüerbach el cual está formado por somas de neuronas parasimpáticas posganglionares y de neuronas del sistema nervioso entérico y recibe inervación de células nerviosas provenientes de la submucosa (Ross, 2015; Shahrestani y Das, 2020). Entre las células musculares de las dos capas se pueden observar células especializadas conocidas como células intersticiales de Cajal, que envían proyecciones entre las células musculares y tienen la función de actuar como marcapasos regulando la motilidad intestinal (Smith *et al*., 1987; Marquez *et al*., 2006; Marquez *et al*., 2014).

Las capas musculares mezclan e impulsan el contenido del tubo digestivo mediante contracciones intestinales, la muscular interna comprime y mezcla el contenido del tubo digestivo por constricción luminal mientras que la contracción de la muscular externa impulsa el contenido luminal hacia caudal por acortamiento de las porciones intestinales (Campbell, 2015). La contracción rítmica y lenta de estas capas bajo el control del sistema nervioso entérico genera el peristaltismo el cual viaja de craneal a caudal, las células intersticiales de Cajal son las encargadas

de mantener este ritmo y su propagación, así como los procesos de segmentación (Goyal y Chaudhury, 2010; Sanders *et al.,* 2016). En el tracto intestinal, el músculo liso genera su propia actividad eléctrica y funciona como un sincitio (Campbell, 2015). La capa muscular circular forma esfínteres como el esfínter pilórico, la válvula ileocecal y el esfínter anal interno (Cuber *et al*., 1984; Lüdtke *et al.,* 1984; Ross, 2015).

La serosa es la túnica más externa del tubo digestivo y corresponde al peritoneo parietal. Está compuesta por una capa de epitelio simple plano llamada mesotelio y una pequeña cantidad de tejido conjuntivo laxo subyacente, el cual corresponde al peritoneo visceral. También pueden encontrarse en la serosa grandes cantidades de adipocitos. La serosa es la túnica más superficial de las partes del tubo digestivo que están suspendidas en la cavidad peritoneal, por lo tanto es continua tanto con el mesenterio como con el revestimiento de la pared abdominal (Ferrufino, 1996; Sepúlveda, 2012; Gartner y Hiatt, 2015). La serosa es atravesada por grandes vasos sanguíneos y linfáticos, así como por troncos nerviosos provenientes del mesenterio (Ross, 2015).

2.3.2 Intestino Grueso

El intestino grueso tiene como principal función la absorción de agua y electrolitos, y la producción y absorción de vitaminas, así como la formación de las heces. Presenta al igual que el intestino delgado, las 4 túnicas características del tracto digestivo, con ciertas variaciones propias de esta porción (Campbell, 2015; Precup y Vodnar, 2019; Sulaiman y Marciani, 2019).

En alpacas, la superficie de la mucosa del intestino grueso es lisa, por ausencia de válvulas conniventes y vellosidades, posee un epitelio cilíndrico simple, con células de tres tipos: absortivas (enterocitos, también llamados colonocitos), secretoras (CCAL, CEE) y células madre. Los enterocitos poseen núcleos esféricos, ovalados o alargados situados en el tercio medio de las células, presentan chapa estriada y uniones estrechas (Montalvo, 1966; Garret *et al.,* 2010; Baker *et al.,* 2014), se encargan de la absorción de agua y electrolitos. Las CCAL secretan mucina y su función es lubricar la mucosa intestinal facilitando el paso del contenido que cada vez es más sólido (Christensen, 1991; Ross, 2015; Sulaiman y Marciani, 2019). El epitelio intestinal sufre un recambiado en su totalidad en menor tiempo que el intestino delgado, siendo entre 2 a 3 días en ratones (Creamer *et al.,* 1961; van der Wath *et al*., 2013).

El epitelio en el colon se invagina formando numerosas criptas de Lieberkün, también llamadas glándulas intestinales o criptas colónicas, de forma tubular rectas que se extienden en todo el espesor de la mucosa (Sepúlveda, 2012; Barker, 2014). La luz de las glándulas intestinales es de calibre uniforme en la zona apical, pero se ensancha en la porción basal; el número de las

glándulas intestinales, así como el de las células caliciformes se incrementan hacia el recto (Montalvo, 1966; Ross, 2015).

Rodeando a las criptas se encuentra la lámina propia con fibras colágenas, reticulares, fibras elásticas, linfocitos, mastocitos, plasmocitos e histiocitos, fibroblastos, α miofibroblastos (que expresan actina del músculo liso (α-SMA)) y pericitos perivasculares (Roulis y Flavell, 2016). La lámina propia presenta algunas características diferenciales con la del intestino delgado, tales como presencia de la meseta colágena, que es una gruesa capa de colágeno y proteoglicanos que se ubican entre la lámina basal del epitelio de revestimiento y la lámina basal del endotelio de los capilares venosos absortivos fenestrados y participa activamente en la regulación de la absorción de agua y electrolitos desde el compartimiento intercelular del epitelio hasta el compartimiento vascular (Ross, 2015).

También existe una vaina fibroblástica pericríptica bien desarrollada, constituida por una población de fibroblastos que se replican con regularidad y se ubican alrededor de las criptas. La división de los fibroblastos se da en la base de la cripta junto a las células madre del epitelio, para luego diferenciarse y migrar hacia arriba en paralelo y en sincronía con las células epiteliales (Neal y Potten, 1981; Ross, 2015).

En alpacas se puede observar en la lámina propia la presencia de vasos linfáticos que se ubican como una red alrededor de la muscular de la mucosa, de manera similar a lo observado en el intestino delgado (Montalvo, 1966), sin embargo, en otras especies no se observa esta red de vasos linfáticos alrededor de la musculara de la mucosa, excepto en condiciones patológicas, aunque existan espacios linfáticos en la mucosa que pueden ser abundantes (Fenoglio *et al.,* 1973; Kenney y Jain, 2008).

La submucosa está formada por tejido conectivo denso irregular, vasos sanguíneos, vasos linfáticos y el plexo de Meissner. En diferentes especies animales como alpacas (Montalvo, 1966), ovinos (Carlens, 1928; Hebel, 1960), cerdos (Biswal *et al*., 1953; Ferguson *et al.,* 1980;) caballos (Carlens, 1928), perros (Atkins y Schofiel, 1972), gatos (Hebel, 1960), ratas (Bland y Britton, 1984), conejos (Jepson *et al.,* 1993), primates (Scott, 1979) y humanos (Watanabe *et al.,* 1983; Jakob *et al.,* 1987) se ha identificado tejido linfoide asociado al intestino, organizado como placas de Peyer distribuidas principalmente en el ciego y la primera porción del colon ascendente. Su número disminuye en hacia el recto (Montalvo, 1966; Liebler, 1986; Sepúlveda, 2012); mientras que en el bovino se puede observar folículos linfoides solitarios distribuidos en todo el intestino grueso (Hebel, 1960; Liebler, 1986; Liebler *et al.,* 1988).

Histológicamente los agregados linfoides son unidades linfoglandulares complejas que se ubican en la submucosa pero que contiene un divertículo epitelial que se proyectan hacia la mucosa, lo que puede distorsionar el espaciado entre criptas intestinales, y tienen la función de controlar la abundante microbiota presente a este nivel intestinal (Liebler *et al.,* 1988; Ross, 2015).

En el colon, la disposición de la túnica muscular es similar a la descrita en el intestino delgado, pero la capa longitudinal externa no se continúa en toda la circunferencia del colon, sino que se agrupa en 3 bandas denominadas taenias del colon cuya función es acortar el colon y formar saculaciones con movimientos propios (Pace y Williams, 1969).

La serosa del intestino grueso está formada por epitelio plano simple (mesotelio) y tejido conectivo laxo; esta serosa presenta apéndices epiploicos que son múltiples lóbulos y lobulillos de tejido adiposo. En el caso del ciego, la serosa es muy vascularizada (Sepúlveda, 2012).

2.4 ONTOGENIA DEL EPITELIO INTESTINAL

La ontogenia es el desarrollo de células, tejidos y órganos a lo largo de la vida, se da siguiendo programas genéticos establecidos, pero al mismo tiempo influenciados por la interacción con el medio donde se encuentre el organismo o por su dinámica interna. Durante la ontogenia se genera una diversidad celular a través de procesos de proliferación y morfogénesis, diferenciación y maduración (Chin *et al*., 2017).

La ontogenia del TGI está muy organizada desde el punto de vista temporal y espacial, ocurre a lo largo de todo el tubo digestivo y en cuatro ejes asimétricos (de Santa Bárbara *et al.,* 2003), generando como resultado células epiteliales especializadas en absorción de nutrientes y secreción de sustancias con funciones endocrinas, de protección, enzimáticas, etc. (Henning, 1981), y también tejido nervioso, células musculares, estructuras vasculares y células intersticiales (Turner, 2009).

2.4.1 Etapa prenatal

Los procesos de histogénesis, organogénesis y maduración del TGI en la etapa prenatal preparan al feto para la transición de feto a cría; de pasar de nutrición placentaria a una nutrición propia, con procesos de digestión de alimentos, lo cual hace que sea necesario que el TGI al momento del nacimiento sea funcional. La coevolución de TGI junto con la microbiota residente, resulta en relaciones comensales que son hasta específicas de cada especie y de cada individuo, existiendo una interacción bidireccional y de particular importancia en la etapa neonatal,

momento en el cual el TGI necesita adaptarse rápidamente al medio ambiente para poder procesar adecuadamente los alimentos y que la colonización sea por microorganismos comensales y no por microrganismos potencialmente patógenos (Penders y Thijs, 2006; Buddington y Sangild, 2011).

En la etapa prenatal, el TGI adquiere las capacidades de digestión de los alimentos, defensa, osmoregulación, eliminación de desechos, y secreción de hormonas y moléculas de señalización que se encargan de su propia regulación (Buddington y Sangild, 2011). Sin embargo, al nacimiento las características estructurales y funcionales específicas del TGI varían entre especies, con diferencias marcadas entre animales altriciales y precociales y entre especies con diferentes hábitos de alimentación en la etapa adulta (Stevens y Hume, 1995; De la Torre, 2006).

Diferentes autores han propuesto que en la ontogénesis del epitelio intestinal ocurren tres fases principales: una fase temprana de proliferación y morfogénesis epitelial, una fase intermedia de diferenciación celular en el que aparecen los distintos tipos celulares que caracterizan al epitelio intestinal y una fase posterior de maduración fisiológica de los diferentes tipos celulares (Menard y Calvert, 1991; Rings *et al.,* 1992; Drozdowski *et al.,* 2010).

En la etapa fetal, el desarrollo del intestino y su maduración dependen de la especie. Las especies altriciales, que nacen después de un periodo corto de gestación como el ratón (*Mus musculus*) y la rata (*Rattus norvegicus*), presentan al nacimiento una mucosa intestinal relativamente inmadura que se caracteriza por un bajo estado de diferenciación epitelial, con una función digestiva incipiente (Klein y McKenzie 1983a, Weaver *et al*., 1991), por lo que dependen estrechamente de sus madres para los procesos de alimentación y evacuación de las heces (Pacha, 2000); mientras que las especies precociales como bovinos, ovejas, cobayos presentan al nacimiento un avanzado desarrollo de las estructuras intestinales (De la Torre, 2006, Guilloteau *et al*., 2009).

El intestino se origina de las tres hojas embrionarias, el endodermo que forma el epitelio intestinal; la hoja visceral del mesodermo lateral forma la lámina propia, submucosa, muscular de la mucosa, capa muscular propia y serosa; mientras que el ectodermo forma el tapiz epitelial del proctodeum (parte final del canal anal) y del stomadeum (boca y glándulas salivales) y, a partir de la cresta neural, el sistema nervioso entérico y componentes conectivos del stomodeum (Le Douarin y Theillet, 1973; Bates *et al*., 2006; Flores, 2015; Deglincerti *et al.,* 2016; Forbester *et al*., 2019).

Al final de la gastrulación, el plegamiento del embrión (lateral, cefálico y caudal) comprime al saco vitelino e integran su pared dorsal al celoma intraembrionario fusionándose en la línea media del embrión formando el intestino, conformado por una pared de células endodermales rodeadas de mesénquima y serosa (Winkler y Wille, 1998; Lewis y Tam, 2006; Spence *et al*., 2011). En esta etapa el endodermo es fenotípicamente homogéneo, pero luego se producen movimientos morfogenéticos en zonas craneal y caudal (Grand *et al*., 1976).

El intestino primitivo está dividido en intestino craneal (intestino anterior portal) y caudal (caudal intestinal portal), para luego desarrollar la zona media o intestino medio. El intestino craneal se continúa con la cavidad bucal primitiva la cual deriva del estomadeum y tiene una porción ectodérmica y una endodérmica. La parte más craneal es el intestino craneal faríngeo del que se originan las bolsas faríngeas, el resto del intestino craneal origina el esófago, el estómago (zona donde ocurre una dilatación) y la primera porción del duodeno. El intestino medio origina al resto del intestino delgado hasta el último tercio del colon transverso, es el lugar donde se originan las asas intestinales. La porción restante del intestino grueso deriva del intestino caudal, hasta la última porción del canal anal, el cual deriva del proctodeum que también tiene porción ectodérmica y endodérmica (Grand *et al.,* 1976).

El desarrollo del intestino anterior y posterior está regulado por la expresión en el endodermo de los factores de transcripción Sox2 y Cdx2 respectivamente (Gao *et al*., 2009; Sherwood *et al*., 2011); el Cdx2 es considerado un regulador master de la identidad intestinal, su deleción en el epitelio resulta en la pérdida completa de la estructura intestinal (Grainger *et al*., 2010). La señalización de Wnt es crítica para el desarrollo del intestino medio y posterior y juega un rol importante en la inducción de la expresión del gen de Cdx2 en el endodermo intestinal (Sherwood *et al*., 2011; Spence *et al.,* 2011; Ren *et al*., 2015). La vía de señalización de Wnt activa a los factores de transcripción High Mobility Group (HGM)-box que pertenecen a la subfamilia del Factor de células T (Tcf)/Factor Mejorador Linfoide (LEF) y media diversas funciones del desarrollo, incluyendo la diferenciación del endodermo y del intestino (Lee *et al*., 1999).

Todo este proceso de formación de las porciones intestinales ocurre en el primer tercio de gestación y es seguido de un proceso de elongación de cada porción intestinal, durante el cual se dan los procesos de proliferación, diferenciación y maduración de cada capa del intestino, estos procesos continúan a lo largo toda la gestación (Trier y Moxey, 1979). Durante la morfogénesis, la hoja visceral del mesodermo lateral rodea al endodermo. Más adelante en el desarrollo

intestinal, las células derivadas de la cresta neural migran y colonizan el intestino formando el sistema nervioso intestinal (Le Douarin y Theillet, 1973).

Durante el desarrollo intestinal, los principales cambios histológicos se dan en la mucosa y el momento en que ocurren estos cambios depende de la especie. La formación de las vellosidades y la remodelación del epitelio se dirigen de craneal a caudal, las regiones craneales de cada porción intestinal se diferencian y maduran antes que las regiones caudales. Dekaney *et al.,* (1997), encontraron similitud en los tiempos relativos a la gestación y los procesos de desarrollo y diferenciación celular del epitelio intestinal entre fetos de cerdos y humanos.

La morfogénesis es controlada por una secuencia precisa de activación de genes (Montgomery *et al.,* 1999) y va acompañada de proliferación celular. Este proceso se despliega a partir de un programa genético endógeno, pero regulado por múltiples señales ambientales que contribuyen a la regulación de la expresión génica y a la homeostasis intestinal (Potten, 1991). Estos procesos de morfogénesis y proliferación celular están regulados por diversos factores, tales como: hormonas, péptidos reguladores y factores de crecimiento tales como el factor de crecimiento similar a insulina 1 (IGF-I), factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento transformante α (TGF-α), proteínas morfogénicas óseas (BMP), proteínas Hedgehog (Hh), Wnt, Notch, entre otros (Scoville *et al*., 2008).

La señalización de las proteínas Hh juega un rol crítico en la regulación de las interacciones epitelio-mesénquima durante la morfogénesis del intestino embrionario, el bloqueo de la señalización de Hh resulta en un incremento de la proliferación de células de la cripta y la alteración de la morfología y de la capacidad de absorción de grasas del enterocito (Tang *et al.,* 2006). El TGF-β desempeña un papel esencial en el inicio de la formación intestinal desde las etapas embrionarias tempranas de formación del endodermo hasta las fases sucesivas de diferenciación del mismo, formación del tubo intestinal primitivo y especialización regional del intestino (Kimelman y Griffin, 2000; Belaguli *et al.,* 2007). Así mismo citoquinas angiogénicas como el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) y el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) juegan un rol importante en el proceso de vascularización durante la etapa de morfogénesis del tracto intestinal (Tachibana *et al.,* 1998; Stratman *et al*., 2011).

Al inicio de la morfogénesis durante el desarrollo embrionario, se observa un epitelio compuesto por una sola capa de células endodermales que tienen forma cúbica (conejos a los 13 días de gestación y en ovinos a los 24 días). Posteriormente este epitelio se aplana y luego se estratifica hasta formar 5 a 6 capas celulares (26 días en ovinos, séptima semana en bovinos)

(Toofanian y Targowski, 1982; Winkler y Wille, 1998) convirtiéndose en un epitelio estratificado indiferenciado, formado por células con núcleos grandes, pocas mitocondrias, organelas intracelulares y con componentes membranosos, para luego ser sustituidas por células con núcleos más pequeños que tienen estructuras citoplasmáticas más numerosas y microvellosidades, que se desarrollan en la membrana apical de las células más superficiales (Karlsson, 1972). La zona basal de estas células indiferenciadas reposa sobre un tejido mesenquimal formado por células productoras de heparin sulfato, colágeno tipo IV y laminina (Beaulieu *et al.,* 1991), que en estadios posteriores se diferenciará para formar la lámina propia y la submucosa.

Entre las células con las que interactúa el epitelio se encuentran los linfocitos intraepiteliales, los fibroblastos pericriptales, también llamados miofibroblastos, los mastocitos, las células endoteliales de los vasos sanguíneos y las neuronas entéricas (Powell *et al.,* 1999a; Leedham *et al*., 2005; Vidrich *et al.,* 2006). Los miofibroblastos constituyen un sincitio celular funcional que se encuentra en estrecha aposición a las células epiteliales. Los miofibroblastos secretan diversos factores de crecimiento que regulan la proliferación y diferenciación del epitelio; intervienen en la modulación de la motilidad intestinal; protegen frente a agentes injuriantes e intervienen en procesos inflamatorios (Powell *et al*., 1999a; Powell *et al.,* 1999b).

En la etapa fetal, todos estos procesos se superponen entre sí; la formación de las crestas epiteliales o prevellosidades y la posterior formación de vellosidades se da por la interacción epitelio mesénquima (de Santa Barbara *et al.,* 2003). El pliegue del endodermo embrionario, se observa hacia el día 17 en conejos, 30 en bovinos y 33 en ovinos, luego de lo cual sigue desarrollándose y se observan las primeras vellosidades rudimentarias hacia el día 20 en conejos, 39 días en ovinos (Toofanian 1976a; Toofanian y Targowski, 1982) y entre los días 60 a 90 en bovinos (Asari *et al.,* 1987).

La transición de epitelio estratificado a columnar simple es seguida por la evaginación de este epitelio, acompañada de mesénquima, que origina las vellosidades. En ese momento se puede observar una única hilera de células columnares en el ápice de las vellosidades, y figuras mitóticas abundantes en el área intervellosidad y escasas en la base de la vellosidad (Dekaney *et al.,* 1997, Pacha 2000). Este proceso de formación de vellosidades verdaderas ocurre en ratas entre los 18 a 19 días de gestación (Quaroni, 1985a), en conejos hacia el día 24 (Toofanian y Targowski, 1982), en cobayos a partir del día 40 (Bayley *et al*., 1984), en ovinos entre 46 y 50 días (Toofanian 1976a; Trahair y Robinson, 1986), en bovinos a los 110 días (Toofanian 1976b), en humanos entre la

novena y la décima semana (Trier y Moxey, 1979) y en cerdos entre las 10 y las 14 semanas de gestación (Karlsson, 1972).

Acompañando a estos procesos de morfogénesis y proliferación celular ocurren los procesos de diferenciación celular, que se sobreponen, en cierta medida, al periodo de morfogénesis y proliferación, no siendo excluyentes entre sí y que continúan en el periodo postnatal, durante un periodo que varía entre especies altriciales y precociales (de Santa Barbara *et al.,* 2003). La diferenciación celular se define como un proceso cualitativo, en el cual ocurren cambios morfológicos, bioquímicos y funcionales. Se producen modificaciones en la expresión génica y, consecuentemente, cambios en la actividad enzimática y en la composición proteica, observándose que un mismo tipo celular puede presentar diversas etapas de diferenciación a lo largo de su ciclo de vida (Potten y Loeffler, 1990). El proceso de diferenciación celular del epitelio intestinal le otorga a este órgano una gran plasticidad, que le permite que en diversas situaciones en la etapa postnatal, se accionen mecanismos de adaptación que incluyen cambios morfológicos y fisiológicos (Biol-N' Garagba y Louisot, 2003).

La expresión de genes involucrados en la diferenciación y enteroplasticidad es estimulada por factores nutricionales de la madre (balance de carbohidratos, lípidos y proteínas de la dieta), distintas hormonas y factores de crecimiento como glucocorticoides, hormonas tiroideas, hormona de crecimiento, péptidos similar al glucagón tipo 1 y 2 (GLP-1 y 2), factor de crecimiento similar a insulina tipo 1 (IGF-1), factor de crecimiento de queratinocito (KGF), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), poliaminas (Drozdowski y Thomson, 2006a,b, Drozdowski y Thomson, 2009), factor de crecimiento transformante-β (TGF) que desempeña un papel esencial en el inicio de la formación intestinal, desde etapas embrionarias tempranas de formación del endodermo hasta las etapas sucesivas de diferenciación del mismo, formación del tubo intestinal primitivo y la especialización regional del intestino (Kimelman y Griffin, 2000; Belaguli *et al*., 2007).

El proceso de diferenciación celular se inicia en el primer tercio de gestación, las células tipo caliciformes y enteroendocrinas se observan en cerdos hacia los 40 días de gestación (Dekaney *et al*., 1997) y en bovinos a partir de los 110 días (Asari *et al.,* 1987; Wille y Winkler, 1999). Estas células que han iniciado su proceso de diferenciación están limitadas a la mucosa proximal y se les conoce como células primitivas y precursoras; tienen un citoplasma pálido con gran núcleo, abundantes ribosomas libres, pequeño retículo endoplásmico, numerosas

mitocondrias pequeñas y gránulos de secreción; no teniendo un rol conocido en el epitelio intestinal.

Las primeras células enteroendocrinas que aparecen son las productoras de serotonina o 5-hidroxitriptamina (5-HT), llamadas enterocromafines, que están relacionadas con los primeros movimientos gastrointestinales, que comienzan en el primer tercio de gestación. La 5-HT es un inductor químico de la motilidad muscular durante el desarrollo intestinal (Totzauer, 1991). Conforme se van formando las vellosidades, el epitelio se estratifica, y a partir del segundo trimestre se comienzan a observar células de tipo absortivo, estas células se ubican principalmente en la parte superior de la vellosidad y aparecen primero en la zona craneal (Skrzypek *at al*., 2007).

Durante este proceso de diferenciación se observan cambios morfológicos, acompañados de la aparición de enzimas típicas del borde de cepillo (fosfatasa alcalina, lactasa, maltasa), que son consideradas marcadores de células absortivas en las vellosidades intestinales del recién nacido y del adulto (Quaroni, 1985a). Hodin *et al*., (1996) sugieren que el retiro del ciclo celular es un prerrequisito en el proceso de diferenciación del enterocito. El epitelio del yeyuno e íleon experimenta una degeneración por vacuolización de las células epiteliales de la vellosidad, la actividad de la fosfatasa ácida de estas vacuolas demuestra su carácter lisosómico (Wille y Winkler, 1998).

Las CCAL indiferenciadas que se ubican en la base de las criptas muestran una gran cantidad de organelas, indicativo de su importancia y función desde muy temprana edad durante el desarrollo. Durante la maduración de las CCAL, los gránulos secretores se fusionan para formar cuerpos mucosos más grandes en la teca, mediante la fusión de las membranas; siendo el producto final secretado como una masa mucosa homogénea desprovista de membranas (Wille, 1990).

La formación de las criptas de Lieberkün se da por penetración de las células epiteliales hacia el mesénquima subyacente. Inicialmente las criptas contienen células de genotipo variado (policlonales); en contraste, las criptas de individuos adultos están compuestas por células de un genotipo derivado de un único progenitor (Schmidt *et al*., 1985; Schmidt *et al.,* 1988).

Las criptas de Lieberkühn se consideran los “nichos” que alojan y permiten la replicación y diferenciación de las células madre hacia los diferentes tipos celulares. El funcionamiento y mantenimiento de este nicho depende de múltiples interacciones entre componentes del propio epitelio intestinal y de éste con el tejido conectivo subyacente. Las criptas se puede observar en

conejos al día 28 y en ovinos al día 56 de gestación (Toofanian 1976a; Toofanian y Targowski, 1982).

Una vez formada la cripta, el proceso de diferenciación celular del epitelio intestinal se inicia a partir de las células madre que se ubican en la cripta. Para el mantenimiento de la cripta en su estado indiferenciado, proliferativo y además para la migración celular de todas las células absortivas y secretoras es necesario la activación de diferentes vías de transducción de señales, siendo muchos los factores implicados en este proceso, tales como los factores de transcripción Fkh6, Cdx e inductores como Wnt, las proteínas Hh, Notch y distintos factores de crecimiento (Gilbert y Barressi, 2016). Por otra parte, el fosfatidil inositol 3-quinasa (PI3-quinasa) y las vías de señalización AKT son reguladores de diversos procesos como el metabolismo, la proliferación, el crecimiento, la diferenciación y la supervivencia (White y Kahn, 1994).

La proliferación de la cripta depende de vías de señalización como Wnt y sus cofactores como R spondin (RSPO) (Kim *et al.,* 2005), mientras que la diferenciación de las células de las vellosidades requiere de la señalización de BMP (Kosinski *et al*., 2007; Chen *et al.,* 2019). En ratones se ha demostrado que la expresión del inhibidor de BMP (BMPi) induce la proliferación de células madre ectópicas ubicadas en diferentes puntos de la cripta y a lo largo de la vellosidad (Davis *et al*., 2015). Este resultado indica que el BMPi promueve la actividad de las células madre dentro de la cripta (Qi *et al*., 2017), por lo que se puede afirmar que las células de la unión cripta vellosidad están en contacto con señales que inhiben la mitosis y desencadenan la diferenciación terminal. El mesénquima subepitelial es la principal fuente de señales determinantes (Farin *et al*., 2012; Kabiri *et al.,* 2014), el estroma peri criptal crea un medio rico en Wnt, factor de crecimiento epidermal, Notch y pobre en BMP (Clevers, 2013; Roulis y Flavell, 2016; Sailaja *et al*., 2016).

El desarrollo del intestino grueso es similar al del intestino delgado, pero el gradiente de desarrollo va de recto a ciego o de caudal a craneal y tiene un retraso de 2 a 3 semanas en comparación al intestino delgado. Se forman vellosidades rudimentarias, las cuales en bovinos se observan hacia los 3 meses de edad en recto y hacia los 5 meses en colon. Estas vellosidades desaparecen hacia el final de la gestación y es un punto crítico en la maduración del epitelio; en el caso del bovino esto se da hacia la semana 28 y en humanos en la semana 30 (Asari *et al.,* 1986; Gordon y Hermiston, 1994; Montgomery *et al.,* 1999); este proceso propio de los mamíferos; mientras que en el resto de los vertebrados como en teleósteos (Plaul *et al.,* 2016) y aves (Zanuzzi y Barbeito, 2014) permanecen durante toda la vida.

En el caso del bovino, el epitelio del ciego continua su maduración en la etapa postnatal (Asari *et al*., 1986). El proceso de destrucción de las vellosidades es similar al que ocurre en yeyuno e íleon por acción de la fosfatasa ácida (Wille y Winkler, 1998). La diferenciación del epitelio ocurre en el mismo sentido, observándose células caliciformes y células absortivas en criptas intestinales, así como células vacuoladas en las vellosidades; mientras que hacia los 8 a 9 meses, las vellosidades han desaparecido del colon y recto, las células epiteliales no contienen vacuolas y las células absortivas y caliciformes emergen de las criptas (Asari *et al.,* 1987).

La submucosa sigue su propio ritmo de diferenciación a partir de tejido mesenquimal que se inicia en el primer tercio de gestación. Las células mesenquimales que expresan el receptor alfa del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFRα) generan además gradientes de señalización de BMP que mantienen el control de las células madre intestinales, participando en los procesos de renovación del epitelio. Recientemente se han dividido a las células fibroblásticas que rodean criptas y vellosidades en telocitos y trofocitos. Los telocitos son el tipo más abundante en la zona de la base de la vellosidad, producen el mayor gradiente de señalización de BMP; mientras que las células PDGFRA+ CD81+ (trofocitos) que se ubican en la base de la cripta secretan el antagonista de BMP, Gremlin1 (McCarthy *et al.,* 2020)

En la lámina propia y la submucosa se ubican células del tejido linfoide, que darán origen a todo el sistema inmune del sistema digestivo. Aparecen en el segundo tercio de gestación, con la formación de agregados linfocitarios que serán las placas de Peyer. En el caso de cerdos los agregados linfoides se observan desde los 50 días de gestación (Chapman *et al.,* 1974) y en bovinos las primeras placas de Peyer primordiales ileales fueron observadas en fetos de 164 días de gestación, hacia los 227 días hay placas de Peyer típicas formadas y hacia los 271 el desarrollo de los folículos linfoides se completó (Doughri *et al.,* 1972; Beyaz y Asti, 2004). En cerdos estos procesos se dan durante los últimos 10 días de gestación y la división cortico-medular se hace evidente después del nacimiento (Chapman *et al.,* 1974); mientras que en ovinos la formación de las placas de Peyer se observa a partir del día 60 de gestación (Aleksandersen *et al.,* 1991). En ratas la formación de las placas de Peyer se inicia en edades muy tempranas, el primer paso es la expresión de molécula de adhesión celular vascular 1 (VCAM1) y molécula de adhesión celular intercelular endotelial (ICAM) que están relacionados con una cascada de reacciones que se inician con la expresión del receptor de interleucina 7 (IL-7R), CD4 o Ia y finalmente con la aparición de células CD3 o B220 positivas (Adachi *et al*., 1997), siendo estas placas de Peyer funcionalmente maduras antes del nacimiento (Beyaz y Asti, 2004).

Las células del epitelio asociado a los folículos (FAE) son cuboidales y se pueden observar en fetos de bovinos desde los 164 días, este epitelio se convierte en columnar hacia los 271 días. En etapas tempranas la superficie apical del FAE es más corta y con pliegues, conforme avanza la edad gestacional hay un incremento del número de linfocitos intraepiteliales, que le otorgan una apariencia heterogénea. En el caso de los bovinos ya existen placas de Peyer y FAE maduro antes del nacimiento (Beyaz y Asti, 2004).

Después de la diferenciación celular, y mientras migran a través de la vellosidad, las células adquieren su capacidad funcional, este proceso se conoce como maduración celular e implica modificaciones de tipo cuantitativo que conducen a una competencia funcional. El proceso de maduración requiere de tiempo para la síntesis de las proteínas que son necesarias para la producción de las estructuras que intervienen en las funciones generales y específicas de la célula (Potten y Loeffler, 1990). La maduración del epitelio intestinal tiene que ver con la obtención de las características de células maduras para cumplir con sus funciones secretoras, absortivas o sensitivas. Esta maduración celular se da entre el final de la gestación y la etapa postnatal dependiendo de la especie; en el caso de la rata, que es una especie precocial, se observan enterocitos maduros recién entre los 5 y los 15 días post nacimiento (Trier y Moxey, 1979).

La aparición prenatal de transportadores apicales de aminoácidos y azúcares proporciona un mecanismo para la absorción de nutrientes diluidos en el líquido amniótico, los cuales son críticos para el crecimiento normal y la maduración del intestino del feto (Buddington *et al.,* 2001). La importancia de la ingestión fetal fue comprobada por Trahair *et al.,* (1993) quienes demostraron que al obstruirse una porción del intestino se observa un retraso en la aparición de la red endocítica apical, interrupción o ausencia de microvellosidades, acumulación de glucógeno y alteración en la estructura de la membrana celular.

La diversidad celular presente en el epitelio intestinal permite que este órgano sea un modelo para estudiar la cinética celular. Dicha diversidad es consecuencia del desarrollo continuo y sucesivo de los procesos de proliferación, diferenciación y muerte celular (Leblond, 1981, Potten y Loeffler, 1990). Sus alteraciones pueden afectar la capacidad de respuesta del intestino frente a retos fisiológicos o patológicos que se presenten en el individuo posteriormente (Drozdowski *et al.,* 2010); por ejemplo, los cambios producidos durante el desarrollo de las vellosidades y la diferenciación de los enterocitos determinaran la capacidad digestiva y absortiva del intestino delgado (Tivey y Smith, 1989).

2.4.2 Etapa postnatal

El TGI se desarrolla intensamente en la etapa perinatal, la mayoría de los elementos estructurales se forman en la etapa prenatal, y completan su desarrollo en la etapa postnatal. El nacimiento es un periodo de adaptación del tracto digestivo a sus funciones y al mantenimiento de la integridad de la barrera intestinal (Guilloteau *et al.,* 1998; Renz *et al*., 2012; Berker, 2014), necesario para adecuarse a la transición desde una alimentación fetal hacia una dieta rica en carbohidratos, proteínas y grasas (Murakami *et al*., 1992; Sklan, 2000; Drozdowski *et al*., 2010). Por ejemplo, el transporte de sodio y de glucosa el cual es limitado al momento del nacimiento y se incrementa en los primeros días de vida (Murakami *et al.,* 1992; Sklan, 2000).

Estudios realizados en lechones (Zabielski *et al*., 2007), ratas (Buts y DeMeyer, 1981) y aves de corral (Lilja *et al*., 1985), demuestran que en la primera etapa post nacimiento, los órganos del aparato digestivo son los de mayor crecimiento, especialmente el intestino delgado. En el caso de los animales con estómagos policavitarios, incluyendo alpacas, el mayor desarrollo en esta etapa es en los estómagos e intestino delgado (Xu *et al.,* 1992a, b; Paredes, 2010). El peso total del intestino, el peso de la mucosa, longitud y la superficie del intestino aumentan significativamente durante las primeras horas de vida; esto se asocia, principalmente, con el aumento de la concentración de proteínas en el epitelio intestinal, relacionada con la retención transitoria de las moléculas de calostro, la mayor síntesis proteica, y la maduración intestinal (Martin *et al*., 2010).

En ratas se ha demostrado que a los 15 días después del nacimiento, el intestino delgado muestra un notable aumento de peso relativo, una mayor profundidad de las criptas intestinales, una elevación del índice mitótico y una disminución en la relación entre la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas, mientras que en corderos estos cambios se producen en los primeros 70 días de vida (Shirazi-Beechey, 1991).

En el desarrollo del intestino postnatal hay dos momentos importantes: el nacimiento, que trae consigo el contacto con el alimento y la microbiota externa (McGhee y Fujihashi, 2012; Torow *et al*., 2017) y el destete, en el cual el cambio de la dieta es acompañado por modificaciones en las funciones digestivas y de transporte, adquiriendo el intestino las características del órgano adulto (De la Torre, 2006). En el caso de animales policavitarios, existe un tercer momento, que es el mantenimiento de una etapa de pre-rumiante durante un período largo que puede variar de 3 a 5 meses a más, el cual finaliza con el destete (Guilloteau *et al*., 2009).

Se observan cambios morfométricos, morfológicos, cambios en el pH de la mucosa intestinal, cambios en el patrón secretor de las células, lo cual estimula vía sensoriales produciendo cambios en la motilidad interdigestiva (Buendía *et al*., 2004; Clevers y Bevins, 2013) que varían según la especie. Hay una aceleración en el proceso de recambio celular, con incremento en el número y tamaño de las criptas y vellosidades, aumento en la densidad de los enterocitos en el eje cripta-vellosidad, incremento de la proporción de enterocitos funcionales (con un mayor número de microvellosidades, para lograr una capacidad absortiva adecuada) (Uni *et al.,* 1998; Vigueras *et al.,* 1999). Así mismo, tanto en la mucosa como en la submucosa, se observa la organización de agregados linfoides y placas de Peyer, y el incremento de linfocitos, células plasmáticas, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos y mastocitos, necesarias para la interacción microbiota-epitelio intestinal (Sherman, 2010; Roca *et al*., 2014).

Experimentos en diferentes especies animales han demostrado que la falta de exposición del intestino a la microbiota produce cambios en el desarrollo de la mucosa, alteración de la maduración del sistema inmune asociado a mucosas (Round y Mazmanian, 2009; Stefka *et al*., 2014), alteración del sistema metabólico celular (Cho *et al.,* 2012), disminución del recambio celular y de la formación de vellosidades (Abrams *et al.,* 1963), alteración en el patrón de glicosilación del epitelio (Bry *et al*., 1996; Goto *et al.,* 2014) e incremento en la permeabilidad de la barrera epitelial intestinal (Tulstrup *et al*., 2015); así también, el ayuno prolongado en los primeros días de vida provoca una disminución del crecimiento de las vellosidades que puede llevar a una atrofia de vellosidades, que incrementa la susceptibilidad del animal a presentar enfermedades entéricas (Pluske *et al*., 1996a,b; Noy y Sklan, 1998a,b).

En cobayos, en la etapa perinatal se observa como único medio de transporte en el enterocito la difusión pasiva de ácido taurocólico, importante en el metabolismo del enterocito y recién hacia los 5 días de vida aparece un transporte activo, que contribuyen al desarrollo de la circulación enterohepática. Los ácidos orgánicos, como el fórmico, propiónico y butírico incrementan el número de células caliciformes, tanto en intestino delgado como en grueso (Mariadason *et al*., 2003). La proliferación celular puede ser inhibida por sustancias específicas locales, tales como TGF-β, o por la carencia de sustratos de energía esencial como butirato en el colon y glutamina en el intestino delgado (Gibson *et al.,* 1996, Bogunovic *et al.,* 2007). El rol del TGF-β es mediar la salida de las células de la cripta hacia la vellosidad (Belaguli *et al.,* 2007), función que se ve apoyada por la proteína tirosina kinasa 6 (PTK6, Brk o Sik) que regula negativamente al Akt en el intestino delgado y se asocia con la salida de las células del ciclo célular y la diferenciación de éstas en enterocitos normales (Haegebarth *et al*., 2006).

El epitelio intestinal es muy dinámico y tiene una alta tasa de renovación celular (Barker *et al.,* 2007, Barker *et al.,* 2014; Gehart y Clevers, 2019); diariamente más de 300 millones de células son generadas para compensar la tasa de muerte celular en la vellosidad (Bjerknes y Cheng, 2005; Ireland *et al.,* 2005). El índice de recambio celular en el eje cripta vellosidad es de 72 horas en duodeno con un tiempo de vida total celular de 96 horas, que se alarga con el avance de la edad (Iji *et al.,* 2001). Los diferentes tipos celulares provienen de las células madre, que tienen una posición fija en la zona media baja de la cripta. La diferenciación y maduración de las células epiteliales, se da durante la migración de éstas desde la cripta hacia la punta de la vellosidad (Wright *et al.,* 1973; Bjerknes y Cheng, 2005). Al llegar a la punta de la vellosidad, las células entran en apoptosis y se desprenden pasando al lumen intestinal donde son degradadas (Shyer *et al*., 2013). En el intestino grueso estos procesos de proliferación, diferenciación y maduración son similares al intestino delgado con la diferencia que se realizan en un tiempo más prolongado y que las células madre están en la base de la cripta (Potten y Loeffler, 1990; Mustata *et al,* 2013; Fordhan *et al*., 2013).

Son muchos los factores involucrados en esta etapa postnatal temprana, tales como cambios hormonales (hormona de crecimiento, cortisol e insulina), pre-programación genética del epitelio intestinal, el efecto de factores de crecimiento como FGFs, factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), IGF1, IGF2, que son de producción local o son ingeridos en el calostro, factores luminales como la secreción biliar y pancreáticas, interacción del epitelio con la microbiota, efectos mediados por el sistema inmune y el sistema nervioso entérico, y cambios en el régimen alimenticio (Klein y McKenzie, 1983a, 1983b; Cummins y Thompson, 2002).

2.5 TIPOS CELULARES QUE FORMAN EL EPITELIO INTESTINAL

El epitelio intestinal se diferencia a partir de las células madre en cinco tipos de células epiteliales: enterocitos, células caliciformes (CCAL), células enteroendocrinas (CEE), células sensoriales y células de Paneth (CP), las cuales cumplen roles importantes en el mantenimiento y la homeostasis de la barrera intestinal (Cheng y Leblond, 1974; Potten y Loeffler, 1990; Ouellette *et al.,* 2000).

2.5.1 Células blásticas pluripotenciales o células madre:

Las células blásticas o células madre son células primitivas rodeadas de un "nicho" mesenquimal especializado (Brittan y Wright, 2004). Ocupan el tercio inferior de las criptas y son imprescindibles en el epitelio, porque son las encargadas de la renovación de las células que se pierden en la vellosidad intestinal; estas células se encuentran en un estado de división permanente

y son necesarias para los procesos de renovación, reparación y homeostasis del epitelio intestinal (Donati y Watt, 2015; Takahashi y Shiraishi, 2020); se encuentran entre 4 a 6 células por cripta de un total de 250 a 300 células aproximadamente que forman la cripta (Freeman, 2008).

En el intestino delgado, se ubican formando un anillo por encima de las CP, que se localizan en la base de la cripta, esto determina la migración de las células indiferenciadas y células maduras a través del eje cripta vellosidad (Bach *et al.,* 2000). Las células que se diferencian hacia CCAL, CEE, sensitivas y absortivas migran hacia la vellosidad, mientras que las CP migran hacia la base de la cripta (Potten y Loeffler, 1990; Stappenbeck *et al.,* 1998; Scoville *et al.,* 2008).

Las células madre intestinales presentan ciertas características, tales como indiferenciación, ilimitado potencial para proliferar y autorenovación, lo cual se define como la capacidad que tienen las células madre intestinales de conservarse como linaje celular y de generar los otros tipos celulares (Potten, 1998; Potten, 2000; Leedham *et al.,* 2005; Takahashi y Shiraishi, 2020). Estas células pueden realizar dos tipos principales de proliferación, mediante divisiones simétricas en las que se generan 2 células hijas idénticas a su progenitora y divisiones asimétricas, en las que una de las células hijas se diferencia hacia un tipo celular diferente al de su madre y continua con un proceso de diferenciación hacia un linaje celular maduro (Loeffler *et al.*, 1993; Batlle *et al.,* 2002).

Las células hijas se llaman células en tránsito, estas células se replican rápidamente y realizan entre 4 y 6 divisiones dentro del compartimiento proliferativo en la región media de las criptas (Barker, 2014). Estas células en tránsito no pueden ser consideradas como células madre debido a que no conservan todas sus propiedades; tienen potencial para proliferar, pero no para automantenerse, debido a que se dividen simétricamente para originar dos células diferenciadas. No obstante, algunas células en tránsito de las generaciones más tempranas podrían conservar cierto potencial para automantenerse si las células madre fueran dañadas; surge así, el concepto de célula madre potencial. Esta potencialidad declina progresivamente a medida que se incrementa la diferenciación, según asciendan o desciendan por el epitelio intestinal. La única característica compartida entre las células madre y las células en tránsito es su capacidad para dividirse (Potten y Loeffler, 1990).

A partir de la división de una célula madre, por la presencia de varias generaciones de células en tránsito amplificadoras, se producen entre 60 a 120 células, son necesarios mecanismos de regulación para mantener su población de forma estable. En el intestino delgado, la regulación

de estas células se da por apoptosis, que se encarga de remover las células madre viejas o dañadas, que podrían provocar replicaciones inadecuadas o proliferaciones excesivamente rápidas (Martin *et al.,* 1998; González *et al.,* 2005, Koren *et al*., 2018).

Las células madre intestinales comprenden distintas subpoblaciones funcionales, las células Lgr5+, que son células que expresan la proteína LRG y se ubican en relación estrecha con las CP (Barker, 2014; Takahashi, 2019), y las células Bmi1 que se ubican en posición +4 de la cripta. Las células Bmi1+ son insensibles a Wnt, lo que hace que no tengan una participación en los procesos de diferenciación celular (Tian *et al.,* 2011) a diferencia de las células Lgr5+ que son células madre multipotentes con largo ciclo de vida y con una progenie que se diferencia en todos los tipos celulares del epitelio intestinal (Wang *et al.,* 1991, Woodward *et al*., 2010; Yin *et al.,* 2014).

Adicionalmente a estos tipos celulares se encuentran poblaciones celulares que expresan Hopx (Takeda *et al*., 2011; Li *et al*., 2014; Li *et al*., 2016a), Tert (Richmond *et al*., 2015) y otros genes. Estas células, Bmi1+, Hopx y Tert, tienen una mayor resistencia a la radiación y al daño celular que las Lgr5+, constituyendo una fuente de reserva de células madre en casos de daño profundo de la cripta (Yousefi *et al*., 2017; Asfaha *et al.,* 2015).

En el proceso de proliferación y diferenciación de las células madre en los diversos linajes celulares intervienen mecanismos complejos e implican la interacción de múltiples vías de desarrollo que incluyen Notch, Wnt/catenina, BMPs y fosfatidilinositol 3 quinasa (PI3-quinasa)/vía AKT (Scoville *et al.,* 2008). La vía de señalización de Wnt, es considerada como la principal para establecer el destino de las células madre y está involucrada en el desarrollo del intestino tanto en la etapa fetal como en la etapa adulta, así como en procesos regenerativos después de una lesión en el epitelio (Crosnier *et al.,* 2006; Karin y Clevers, 2016; Han *et al*., 2017).

Wnt participa en la proliferación de las criptas intestinales y juega un rol importante en la expresión de numerosos marcadores de las células madre, especialmente en las células Lgr5+ (de Lau *et al.,* 2011); pero también media el proceso de diferenciación de las líneas secretoras especialmente de las CP a través de la expresión de la vía Math-1 o por interacción con la vía Notch (Andreu *et al*., 2005; van Es *et al*., 2005; Crosnier *et al*., 2006; Van der Flier y Clevers, 2009). La inhibición de Wnt por sobreexpresión de dickkopf 1 produce la pérdida de todas las células de tipo secretor (Pinto *et al.,* 2003).

La vía de Wnt está controlada por ligandos (Sato *et al*., 2011), receptores, factores inhibidores y estimuladores (Driehuis y Clevers, 2017). Tiene dos receptores transmembrana, el receptor de la familia Frizzled y el receptor de la lipoproteína de baja densidad 5 y 6 (LRP5/6) (Kazanskaya *et al.,* 2004). Los ligandos Wnt3, 6, y 9b, son secretados principalmente por las células epiteliales incluyendo las CP (Porter *et al*., 2002), mientras que Wnt2b, 4, y 5b son secretados por células mesenquimales del intestino, lo que confirma la interacción existente entre las CP y el mesénquima con las células madre para el mantenimiento del nicho celular y la homeostasis de la cripta (Gregorieff *et al*., 2005; Farin *et al*., 2012; Duran *et al*., 2012).

La vía de señalización Wnt induce cambios conformacionales y dimerización de su receptor, frizzed, esto genera el bloqueo de la activación de vías de degradación proteosomal de la β-catetina. Este aumento de los niveles de β-catenina no unida a la membrana celular resulta en la translocación dentro del núcleo que conduce a la activación del complejo proteico denominado β-catetina/TCF, que se une al ADN para permitir la transcripción de los genes de respuesta a Wnt (Clevers y Nusse, 2012; Ochoa-Hernández *et al.,* 2012; Clevers y Nusse, 2017).

Muchas micotoxinas y productos químicos presentes en el alimento dañan a las células madre (Lee *et al*., 2019) mediante la disminución de la regulación de las vías de señalización de Wnt/β catenina lo cual produce daños en el epitelio intestinal y la destrucción de la arquitectura epitelial y de la barrera intestinal (Zhou *et al*., 2019a), que se regenera cuando la vía de señalización es reactivada (Li *et al*., 2019; Zhou *et al*., 2019b). Estos mecanismos pueden ser estimulados por nutrientes en la dieta (Marreiro *et al*., 2017) mediante modulación de diversos procesos biológicos (Walker, 2009; Maret, 2013); tal es el caso del zinc aspartato que incrementa la activación de la vía de señalización Wnt/β catenina e incrementa la proliferación y diferenciación de las células en el epitelio intestinal (Zhou *et al*., 2020).

El gen de factor de transcripción Ascl2 está restringido a las células Lgr5+ (van der Flier *et al*., 2009) y su deleción está relacionada con la pérdida de la homeostasis de la cripta y la pérdida de células madre (Schuijers *et al*., 2015). La diferenciación de las células madre hacia células absortivas requiere de la expresión del factor Hes1 a través del Elf3 y el receptor tipo II del TGF β (Tgf-βRII) (Van der Flier y Clevers, 2009).

Para la diferenciación hacia células secretoras se necesita la expresión de Math-1 en su primera línea divisoria, (Shroyer *et al.,* 2005; Suzuki *et al*., 2005; Van der Flier y Clevers, 2009) que se induce por disminución o bloqueo de la vía Notch (Suzuki *et al.,* 2005, Carulli *et al*., 2015; Srinivasan *et al*., 2016). La vía Notch-Delta se activa de forma yuxtacrina, porque tanto receptor

como ligando se encuentran en la membrana celular de las células indiferenciadas. Su activación produce un incremento en la expresión de Hes-1 que regula negativamente la transcripción del gen Math1 orientando el patrón de diferenciación hacia células de linaje absortivo (Yang *et al.,* 2001). Así mismo la activación del factor de transcripción Atoh1 en las células madre, estimula la diferenciación hacia líneas absortivas como CP, CCAL y CEE (Jenny *et al.,* 2002; Lee *et al.,* 2002). En el caso de las CEE, la neurogenina 3 (Ngn3) y la expresión del gen Pdx1 juegan un rol crucial en su proceso de diferenciación (Yamada *et al*., 2001; Shroyer *et al.,* 2005; Van der Flier y Clevers, 2009), que culmina en 15 tipos de CEE.

En el proceso de diferenciación hacia CP se requiere la transcripción selectiva de los genes Gfi1 y Sox9, requiriendo esta última la actividad del complejo β-catetina / TCF (Blache *et al*., 2004; Van der Flier y Clevers, 2009). Cabe indicar que la posición de las CP en la base de la cripta también depende de la expresión de Efrina B3 (EphB3), que es un receptor de membrana con un dominio tirosina kinasa, altamente expresado en las CP. La expresión de los genes EphB3 está regulada por señales β-catetina nuclear (Batlle *et al*., 2002). Las CP además de secretar Wnt, interactúan con las células columnares de la base de la cripta, donde mantienen un ambiente libre de microorganismos que pueden dañar a las células madre, esto lo hacen mediante la secreción de productos antimicrobianos (Porter *et al*., 2002). Las CP expresan EGF, TGF α y el ligando de Notch tipo delta 4 (Dll4) (Sato *et al*., 2011).

Para el desarrollo de las CCAL son necesarios la expresión de Gfi1, el factor tipo krüppel 4 (Klf4) y el factor tipo E47 (E47). Wnt regula la diferenciación de CCAL por modulación de los efectores de Notch tales como Atoh1, Hes1y Spdef (Bosse *et al.,* 2006; Tsuchiya *et al.,* 2007; Noah *et al*., 2011; Peignon *et al.,* 2011). El factor de crecimiento del keratinocito (KGF) estimula la proliferación y diferenciación de las células epiteliales especialmente de las CCAL, por incremento de la expresión del péptido Trefoil 2 (TFF2) en el intestino delgado proximal y el contenido de proteína TFF3 a lo largo de todo el intestino, de manera independiente del consumo de alimento (Fernandez- Estivariz *et al*., 2003). El factor trefoil intestinal (ITF) es expresado de forma selectiva en CCAL intestinales y estimula la secreción de estas células (Jorgensen *et al*., 1982; Iwakiri y Podolsky 2001b); además promueven la migración celular a través de la vía del TGF β (Dignass *et al*., 1994), y es secretado junto con la mucina con la finalidad de proteger al epitelio frente a daños por diferentes agentes (Kindon *et al.,* 1995),

2.5.2 Enterocito tipo fetal o enterocito vacuolado fetal (EVF)

Un rasgo característico del intestino inmaduro es la presencia de enterocitos vacuolados tipo fetal, que se caracterizan por la presencia de una red endocítica por dentro de la membrana de la zona apical y de un sistema canalicular apical. Los EVF preceden a los enterocitos tipo adulto en mamíferos, y muestran un alto nivel de semejanzas de aspecto estructural a través de las especies (Skrzypek *et al*., 2007; Skrzypek *et al.,* 2018)

La vacuolación de los enterocitos ocurre en todas las regiones del intestino delgado en algún momento del desarrollo (Fan *et al.,* 2001), aunque la frecuencia de presentación de vacuolas se incrementa de craneal a caudal (yeyuno a íleon) y desde la base a las puntas de las vellosidades (Kaup *et al.,* 1996), luego la maduración de los enterocitos sigue el mismo sentido y para ser sustituidos por enterocitos que carecen del sistema canalicular apical (Skrzypek *et al.,* 2007; Skrzypek *et al.,* 2018); este recambio ocurre en los días posteriores al nacimiento (Asari *et al*., 1987; Trahair y Robinson, 1989) se da así el cierre de la barrera intestinal estimulado por el consumo de alimento (Baintner, 2002; Barszcz y Skomial, 2011).

Los enterocitos fetales están preparados para la actividad digestiva desde los primeros meses de desarrollo, lo que se demuestra por la diferenciación temprana de este tipo celular. Son las células encargadas de transportar las proteínas del calostro y la leche del lumen intestinal hacia la sangre. Participan en la absorción de macromoléculas calostrales incluyendo imunoglobulinas, hormonas y péptidos bioactivos necesarios en el desarrollo del epitelio intestinal y del sistema inmune asociado a la mucosa. El sistema canalicular apical es el que participa en el transporte y digestión de las moléculas absorbidas (Skrzypek *et al*., 2018). Estas células contienen glucógeno en su citoplasma (Winkler y Wille, 1998) que se observa como depósitos que van disminuyendo cuando avanza la edad y proporcionan una reserva metabólica al momento del nacimiento (Totzauer, 1991).

En estadios tempranos del desarrollo postnatal se pueden observar enterocitos vacuolados en el yeyuno proximal de caninos y ovinos hasta 3 días después del nacimiento, mientras que en el yeyuno distal se observan hasta el día 14; sin embargo, el recambio en el duodeno es rápido, observándose solo este tipo celular en las primeras 24 horas post nacimiento (Paulsen *et al.,* 2003; Skrzypek *et al*., 2007). En bovinos las células vacuoladas desaparecen después del día 7 post nacimiento (Asari *et al.,* 1987) y en lechones de un día de edad. Los EVF, presentan gránulos infranucleares que contienen altas concentraciones de inmunoglobulina G (Kömüves *et al*., 1993).

2.5.3 Enterocito

Constituyen la población celular más abundante del epitelio intestinal; son células cilíndricas que poseen un núcleo esférico-ovoide situado cerca del polo basal de la célula, presentan numerosas microvellosidades distribuidas de manera ordenada en la zona apical que con el microscopio óptico se visualizan como un borde estriado o chapa estriada (Benjamin *et al*., 2013; Conway *et al*., 2013; Wlodarska *et al*., 2014). En láminas coloreadas con hematoxilina-eosina su citoplasma es débilmente eosinófilo, el núcleo es esférico y laxo, mientras que la chapa estriada se observa como un borde refringente intensamente eosinófilo (Banks, 1996).

Los enterocitos presentan proyecciones llamadas microvellosidades, las cuales son especializaciones de la membrana apical de 1 µm de largo y 0,5 µm de ancho, que en conjunto forman la chapa estriada. Las microvellosidades son mucho más numerosas en el intestino delgado; llegando a tener cada célula alrededor 3000 microvellosidades en su superficie luminal (Horiuchi *et al*., 2005; Walton *et al*., 2016). Se estima que aumentan la superficie de absorción de 14 a 40 veces (Ganapathy *et al*., 2006).

Los enterocitos, contienen un haz longitudinal central de filamentos de actina, unidos entre sí por medio de uniones cruzadas una red de microfilamentos horizontales conocidos como red terminal y formados por fimbrina y villina, ubicados en la porción apical y que se insertan en las zónulas adherentes del complejo de unión intercelular apical, mediante complejos proteicos de actina, miosina y calmodulina, y en la base con filamentos de actina, miosina y espectrina los cuales se disponen en la región apical de la célula (Stinson y Calhoun, 1996; Geneser, 2000). Estas microvellosidades forman una red intermicrovillar con puntos de adhesión intermicrovellosidad que es mediado por protocaderinas (CDHR2 y CDHR5) (Crawley *et al.,* 2016; Choi *et al.,* 2020).

La membrana de las microvellosidades posee un glicocalix de gran espesor, de entre 7 y 15µm en el ratón. Está compuesto por diferentes glicoconjugados de carga negativa que forman una cubierta que tiene función protectora, y además se adhiere enzimas intestinales producidas por los enterocitos tales como peptidasas, disacaridasas y lipasas que contribuyen a finalizar el proceso digestivo en el lumen intestinal (Horiuchi *et al*., 2005; Pelaseyed *et al.,* 2014; Sun *et al*., 2020). Por dentro de la red terminal, el citoplasma apical del enterocito, contienen abundantes cisternas de retículo endoplásmico rugoso (RER), ribosomas libres, mitocondrias, muchas vesículas y túbulos del retículo endoplasmático liso (REL) y un complejo de Golgi supranuclear

bien desarrollado; en el citoplasma basal hay RER, ribosomas libres y mitocondrias (Vieites, 2002).

Los enterocitos se unen a las células vecinas y a la lámina propia a través de uniones muy especializadas, que permiten mantener la estructura y la permeabilidad de la barrera intestinal (Ulluwishewa *et al*., 2011; Shi *et al*., 2018). Los bordes laterales de las células epiteliales se unen entre sí por una serie de estructuras complejas, que constituyen los llamados complejos de unión conformados de apical a basal por la zónula ocludens (ZO), la zónula adherens (ZA) y las macula adherens o desmosomas; en la zona más basal encontramos uniones comunicantes conocidos como nexos o Gap (Assimakopoulos *et al.,* 2011). La ZA es la responsable de la adhesión y la polaridad de la célula; la ZO es el medio más apical y consiste en una estrecha banda compuesta por varios filamentos que unen unas células con otras, donde el número de filamentos está correlacionado directamente con el grado de impermeabilización de la vía paracelular, es más restrictivo en las vellosidades que en el epitelio de las criptas, ejerciendo la función de barrera para iones y macromoléculas (Unno y Fink, 1998; Shi *et al*., 2018).

La unión de los enterocitos con las células de la lámina basal se da principalmente mediante hemidesmosomas, que forman una red transcelular que confiere resistencia mecánica a los tejidos y permite que las células mantengan su morfología; además de ser centros de señalización que participan en los procesos de diferenciación, proliferación y la morfogénesis (Garrod y Chidgey, 2008; Walko *et al*., 2015).La función primaria de los enterocitos es la absorción de los nutrientes en el intestino delgado, este transporte desde el lumen intestinal hacia la sangre ocurre a lo largo de la vellosidad a través de mecanismos altamente especializados (Kiela y Ghishan, 2016). Intervienen transporte activo y pasivo, en donde el transporte pasivo involucra difusión simple y puede ocurrir por dos vías: transcelular y paracelular (Drozdowski y Thomson, 2006a).

En el transporte transcelular se atraviesa directamente la bicapa lipídica, por ejemplo en el transporte de gases y agua (Chen y Lui, 2019); y por difusión facilitada cuando es a través de transportadores o canales iónicos. El transporte activo puede ser primario (mediante proteínas bomba que actúan en contra de un gradiente de concentración) o secundario cuando una molécula se transporta en contra de un gradiente utilizando la energía liberada por el transporte simultáneo a favor de un gradiente; estas son vías que media el ingreso de solutos en contra de su gradiente electroquímico y son dependientes de ATP, ejemplo la bomba Na+/K+ ATPasa que es el

mecanismo intercambiador más importante en la membrana basolateral y es un ejemplo claro de transporte activo (Alexander y Carey, 2001; Neverisky y Abbott, 2015; Clausen *et al.,* 2017).

La capacidad de absorción de nutrientes depende del área de superficie de la mucosa intestinal, de la actividad de las enzimas digestivas, y de la presencia de transportadores a nivel basolateral y en las microvellosidades y son específicos para monosacáridos (glucosa, fructosa, galactosa), péptidos o aminoácidos libres, minerales y vitaminas (Amat *et al.,* 1996; Neverisky y Abbott, 2015. Esta impermeabilización del epitelio está determinada por la vía paracelular, tal es el caso del yeyuno que es considerado un epitelio poroso (leaky epithelium) porque permite la transferencia de grandes cantidades de líquidos de similares características (absorción isotónica), a diferencia del colon, que es considerado un epitelio impermeable (tight epithelium), en el cual la transferencia de solutos se hace en contra de su gradiente (Masyuk *et al.,* 2002).

La absorción de carbohidratos en el epitelio intestinal varía según condiciones como dieta, consumo de alimento, temperatura corporal, nivel de maduración del enterocito y se da por mecanismos pasivos o activos (Ferraris, 2001). El incremento del transporte activo de glucosa está directamente correlacionado con el tiempo de maduración tanto morfológico como de la actividad enzimática de las células absortivas (Holdsworth y Wilson, 1967). El transporte de glucosa y galactosa es activa a través del transportador de glucosa acoplado a Na+ SGLT1, que se expresa en el borde en cepillo de los enterocitos, y es el encargado de transportar alrededor del 80% de la glucosa que ingresa al organismo (Alexander y Carey, 2001; Gorboulev *et al.,* 2012); y de forma pasiva mediante difusión simple usando los transportadores GLUT-2, independiente de Na+, en la membrana apical del enterocito, este incrementa la capacidad de absorción de glucosa ante ciertos estímulos (Affleck *et al.,* 2003; Zheng *et al.,* 2012; Grefner *et al*., 2015). Una vez dentro del enterocito, la glucosa atraviesa la membrana basolateral hacia el intersticio cerca a los capilares mediante al transportador GLUT-2 (Gilbert *et al.,* 2008; Ait-Omar *et al*., 2011; Chaudhry *et al*., 2012; Röder *et al*., 2014).

En el caso de la fructosa, esta ingresa dentro del enterocito a través de transporte pasivo facilitado mediado por GLUT-5 (canal de difusión facilitada independiente de Na+), localizado en el borde en cepillo, este es un transportador altamente específico para fructosa e independiente de insulina (Douard y Ferraris, 2013; George-Thompson *et al*., 2015); la fructosa pasa del citosol hacia el intersticio a través de GLUT-2, que también puede transportar glucosa y galactosa (Cheeseman, 1993; Ebert *et al*., 2018; Ferraris *et al*., 2018). El transporte de glucosa en los enterocitos se ve afectada por diversos factores, el incremento de glucocorticoides induce la

expresión de kinasa 1 regulada por glucocorticoides que incrementa la expresión de SGLT-1, al igual que el estrés por calor, lo que se traduce en un aumento en el transporte de glucosa (Garriga *et al*., 2006).

La hidrólisis de los oligopéptidos ocurre en el glicocálix de las microvellosidades, donde las oligopeptidasas los dividen hasta aminoácidos, di y tripéptidos que pueden ser absorbidos por las células principalmente de yeyuno e íleon (Jahan-Mihan *et al.,* 2011; Miner-Williams *et al.,* 2014). La absorción de aminoácidos, di y tripéptidos se realizá a través de los transportadores de las familia SLC, que usan cotransporte con Na+ (Chen *et al*., 2018).

La mayoría de los aminoácidos neutros se absorben a través de un proceso de transporte activo que involucra el transportador B0AT1 (codificado por el gen Slc6a19) que es un simportador de aminoácidos acoplado a Na+ que se encuentra en la membrana apical de los enterocitos (Bröer *et al*., 2004; Bröer *et al.,* 2011), para su funcionamiento requiere de la expresión de ACE2 (enzima convertidora de angiotensina 2) (Kowalczuk *et al.,* 2008).

Los transportadores EAAC1 (SLC1A1), GLT-1 (SLC1A2) y GLAST (SLC1A3) forman un sistema de absorción de aminoácidos neutros dependientes de Na+ y con alta afinidad al glutamato (Kanai e*t al*., 2013), en el caso del ASCT2 (SLC1A5) este se encarga del transporte de pequeños aminoácidos neutros de alta afinidad como alanina, serina, cisteína y glutamina (Kanai y Hediger, 2004; Pingitore *et al.,* 2013). El transportador SIT1 (transportador sodium/Imino-ácido 1) pertenece al sistema IMINO, encargado de mediar el transporte de aminoácidos tipo prolina (iminoácidos) dependiente de sodio (Takanaga *et al.,* 2005), se encuentra en las microvellosidades de enterocitos del yeyuno de conejo, rata, ratón y en humano en edad adulta (Kowalczuk *et al.,* 2005; Romeo *et al*., 2006; Meier *et al.,* 2018).

El sistema CAT1 (SLC7A1) es un transportador independiente de Na+ para aminoácidos catiónicos como la arginina, la lisina, la ornitina y la histidina (Verrey *et al.,* 2004) los cuales se encuentran ubicados en la membrana apical y basolateral del intestino delgado (Yan *et al.,* 2011). El transportador LAT2 (SLC7A8) se encarga del movimiento de aminoácidos excepto prolina, y su ubicación es en la membrana basolateral de los enterocitos de yeyuno e íleon (Dave *et al*., 2004). El transportador b0,+AT (SLC7A9) se encarga de intercambiar cationes intracelulares con aminoácidos neutros y se ubica en la membrana apical de los enterocitos (Verrey *et al.,* 2004).

Dentro del grupo de transportadores ASC tenemos al Asc-1 (SLC7A10) encargado de movilizar pequeños aminoácidos neutros como L-alanina, L-serina, L-cisteina, glicina, L-treonina

y 2 ácido aminoisobutírico. El sistema X-C (4F2hc (SLC3A2)-xCT (SLC7A11)) es el encargado de transportar aminoácidos aniónicos independiente de Na+, es un intercambiador cisteína/glutamato (Fukasawa *et al.,* 2000).

Los transportadores TAT1 (SLC16A10) y B0,+(SLC16A14) de la familia SLC16A, son transportadores de baja afinidad independientes de Na+ y Cl- que median una difusión electroneutral facilitada, se encuentran ubicados en la membrana basolateral de los enterocitos (Ramadan *et al.,* 2006; Mariotta *et al.,* 2012). Otros transportadores de aminoácidos son los PAT1 (SLC36A1) y PEPT1 (SLC15A1); los cuales son cotransportadores acoplados a H+, cuya óptima respuesta absortiva depende del funcionamiento del intercambiador Na+-H+ (NHE3), el cual está ubicado en la membrana apical de los enterocitos (Thwaites *et al.,* 2007; Frølund *et al*., 2010). El transportador PEPT1 es el responsable de la absorción de la mayoría de di y tripéptidos a nivel intestinal (Spanier, 2014).

Un factor importante en los procesos digestivos y de absorción de nutrientes en el TGI es el pH de la mucosa intestinal, el cual varía según la porción del TGI considerada. El mantenimiento de los valores de pH dentro de los rangos homeostáticos, influyen positivamente en la funcionalidad celular, por ejemplo, en la absorción de nutrientes y fármacos. Los cambios en el pH extracelular modifican el pH intracelular de los enterocitos, esto a su vez altera sus funciones secretoras y absortivas. Existen distintos mecanismos para mantener el pH equilibrio intracelular; el más importante es la secreción de fluidos ricos en H+ y HCO3 - , regulando de esta manera el pH intracelular (Shimada y Hoshi, 1987; Hoinard y Gore, 1988; Wenzl *et al.,* 1989).

Los cambios en el pH del yeyuno por la llegada de nutrientes provenientes del duodeno, estimula la secreción de colecistoquinina (CCK) y somatostatina por parte de las células enteroendocrinas, las cuales por mecanismos neurohormonales inhiben la secreción de HCl en el estómago, lo que a su vez, modifica la secreción de glándulas anexas y la contractibilidad del TGI (Orloff *et al.,* 1992). El complejo mioeléctrico migratorio está regulado por el pH duodenal (Woodtli y Owyang, 1995). En el colon, la alcalinización favorece la absorción eficiente de electrolitos débiles como amoniaco y ácidos grasos de cadena corta (AGCC) (Castell y Moore, 1971).

El descenso del pH en el colon humano (McNeil *et al.,* 1987), en el ciego de la rata (Fleming *et al.,* 1991) y en el colon del cuy (Oltmer y von Engelhardt, 1994) afecta los índices de absorción de AGCC, dado que la superficie luminal del intestino grueso requiere un

microambiente con pH constante para que este proceso ocurra (Feldman y Ickes Jr, 1997). El transporte de di y tripéptidos a través de PEPT1 y la expresión de estos transportadores en el intestino delgado está influenciado por el gradiente de protones y la acidificación del pH en el yeyuno (Daniel y Kottra, 2004), lo cual contribuye al transporte de nutrientes en el epitelio intestinal (Chen *et al*., 2010). También se sabe que el aumento en el pH intestinal por encima de 7.0 modifica la afinidad de los transportadores de sodio y fosfato, disminuyendo su absorción a nivel intestinal cuando el pH llega a 7.6 (Danisi *et al*., 1984).

2.5.4 Células caliciformes (CCAL)

Las CCAL son células epiteliales secretoras que se ubican en el eje cripta vellosidad y se encuentran distribuidas en todo el tracto intestinal, representan el mayor componente celular secretor del epitelio intestinal y del sistema inmune innato del intestino (Mccauley y Guasch, 2015). Son consideradas glándulas unicelulares por su secreción de mucina, proteínas y factor trefoil, y cumplen el rol de mantenimiento de la homeostasis epitelial (Wong *et al.,* 1999; Corfield, 2014). Estas células almacenan gránulos de mucina dentro de su citoplasma apical, región denominada teca. La progresiva acumulación de secreción expande la teca y otorga a la célula la forma de cáliz.

Las mucinas son glicoproteínas (de las cuales MUC-2 es el principal producto de las CCAL). El contenido liberado hacia el lumen se hidrata por la elevada concentración de carbohidratos y forma una capa de revestimiento de mucus que protege al epitelio de la abrasión y de la adhesión bacteriana, y además actúa como tampón (Geneser, 2000; Ross *et al.,* 2005; Karcher y Applegate, 2008; Birchenough *et al*., 2015; Johansson y Hansson, 2016).

La CCAL posee gran desarrollo del retículo endoplasmático rugoso y del complejo de Golgi, organelas que están involucradas en la síntesis de glicoproteínas como las mucinas. La secreción de las CCAL está compuesta principalmente por agua, glicoproteínas de alto peso molecular (mucinas) y otros componentes menores como los electrolitos y calcio. La principal mucina secretada por las CCAL es la mucina 2 (MUC-2) (Liquori *et al*., 2012) que es una glicoproteína con un 80% de carbohidratos, que sirve como sustrato para bacterias ácido lácticas.

La MUC-2 presenta un dominio central con repeticiones de serina y secuencias ricas en treonina, los cuales son sitios de unión a glicanos; así mismo tiene 2 dominios, N y C, los cuales son ricos en cisteína, y determinan las propiedades fisicoquímicas y la función que desempeñan las CCAL (Liquori *et al*., 2012; Kiyohara *et al.,* 2012). Además de MUC-2 podemos encontrar en el citoplasma de las CCAL, otras proteínas como FCGBP, CLCA1, ZG16 y AGR2,

empaquetados en gránulos ubicados en la zona apical de la célula y que son liberados a la luz intestinal por exocitosis (Johansson *et al.,* 2008, Barker, 2014).

La producción y secreción de las CCAL es estimulada y regulada por el bajo pH, alta concentración de calcio en el lumen intestinal (Johansson *et al*., 2011; Ambort *et al*., 2012), endocitosis, acetilcolina (Speciean y Neutra, 1982; Meyer-Hoffert *et al*., 2008; Johansson, 2012; Birchenough *et al.,* 2015), generación de radicales libres de oxígeno (ROS), activación de inflamosomas (Colony y Specian, 1987; Lamkanfi y Dixit, 2014), activación de respuesta inmune vía linfocitos Th2 (Wang *et al*., 2008), cambios en la microbiota, presencia de toxinas bacterianas y parásitos (Leblond, 1981; Nilsson *et al*., 2014; Engevik *et al.,* 2019; Dao y Li, 2020), tipo de alimento y daños en la mucosa (Desai *et al*., 2016; Rao *et al.,* 2017; Schroeder *et al.,* 2019).

La actividad secretoria de las CCAL ocurre mediante un mecanismo merocrino, aunque también se ha descrito una secreción de tipo apocrina (Gesase, 2007). Los gránulos secretorios se fusionan con la membrana basal a un ritmo basal y bajo estimulación alta, siendo ambos mediados por un mecanismo exocítico regulado. La secreción basal es inducida por bajos niveles de activación de los receptores purinérgicos P2Y2 y de adenosina A3, lo que produce la liberación de gránulos recién sintetizados que se mueven por la periferia del componente granular central.

La exocitosis regulada o compuesta se caracteriza por la liberación acelerada y masiva del componente central de mucina ante niveles elevados de activación de los mismos ligandos que en la secreción basal (Adler *et al*., 2013), y estímulos de diferentes secretagogos como hormonas, neuropéptidos y mediadores inflamatorios (Neutra *et al.,* 1982; Sderholm y Perdue, 2006; Gustafsson *et al.,* 2012a, b; Ermund *et al.,* 2013a, b). Está mediada por sustancias típicas de la exocitosis como Syntaxinas, Munc18, VAMP y proteínas SNAP (Adler *et al*., 2013). La secreción de las CCAL en el epitelio superficial del colon es un proceso continuo para mantener la capa de moco, mientras que en criptas del colon y vellosidades del intestino delgado es en respuesta a estímulos (Speciean y Neutra, 1982; Johansson, 2012; Birchenough *et al*., 2015).

La secreción de las CCAL contribuye a la formación de la capa de mucus, cuyo contenido principal son las mucinas que son glicoproteínas formadas por un esqueleto proteico al que se le agregan dominios glicosilados sulfatados y no sulfatados y se hidrata en la luz intestinal, formando un gel viscoelástico que protege y lubrica al intestino, y que además permite el transporte de diversos componentes entre el lumen intestinal y el epitelio, formando la primera barrera de protección del intestino (Eurell y Frapier, 2006; Desai *et al.,* 2016).

2.5.5 Células de Paneth (CP)

Las CP, son células de características únicas, de linaje secretor que participan en la inmunidad innata del tracto intestinal a través del mantenimiento de la microbiota mediante la secreción de proteínas y péptidos antimicrobianos como lisozimas, defensinas y fosfolipasa A2 secretoria (Keshav, 2006; Noah *et al*., 2011); además contribuye en el mantenimiento de la homeostasis intestinal, regulando los procesos de proliferación y diferenciación las células madre, protegiendo a estas células e interviniendo en los procesos de detoxificación del tracto digestivo (Porter *et al*., 2002; Bevins, 2004; Ouellette, 2005; Wehkamp y Stange, 2020). Una de las funciones más importantes de las CP es la secreción local de factores tróficos como el TGF α y Wnt3, que regulan la diferenciación de las células madre (Sato *et al*., 2013).

Las CP han sido identificadas en diferentes mamíferos como el humano (Erlandesen *et al.*, 1974; Ehrmann *et al.,* 1990; Fawcet, 1995), rata (Behnke y Moe, 1964; Sundström y Heleander, 1980; Rodning *et al*., 1982), ratón (Trier *et al.,* 1967; Bjerkens y Cheng, 1981; Satoh *et al*., 1992), cobayo (Satoh *et al.,* 1990; Vásquez *et al.,* 2014), ardilla (Toth, 1980), hámster, mono (Satoh *et al*., 1990), conejo (Pitha, 1968; Abdel-Magied y Taha, 1995; Zanuzzi *et al.,* 2008), caballo (Takehana *et al*., 1998), oveja (Ergün *et al*., 2003), camello (Abdel-Magied y Taba, 1995) y crías de alpacas menores de 21 días (Lira *et al*., 2012). Son de forma piramidal, se ubican en la base de la cripta formando grupos; ocasionalmente se las puede observar en la región del cuello de la cripta en yeyuno e íleon, aunque existen variaciones específicas (Ergün *et al*., 2003).

Las CP tienen un tiempo de vida promedio de 18 a 23 días, desde que llegan a la base de la cripta hasta que entran en apoptosis (Gent y Creamer, 1972; Bjerknes y Cheng, 2005; Ireland *et al*., 2005). Otra de las formas de muerte celular relacionado con las CP es la autofagia, principalmente en células dañadas, este es un proceso de autodegradación caracterizado por la creación de una vesícula intracelular llamada autofagosoma que envuelve organelas dañadas y se fusiona con el lisosoma seguido de la degradación y condensación de la cromatina (Fink y Cookson, 2005; Glick *et al*., 2010).

En posición supranuclear presenta granulaciones citoplasmáticas redondas, PAS positivas y que se colorean de rosa con hematoxilina-eosina (Buendía *et al.,* 2004; Mantani *et al*., 2014). Estos gránulos están compuestos por lisozima (Deckx *et al.,* 1967; Otto, 1973; Lira *et al*., 2012; Vásquez *et al.,* 2014), fosfolipasa A2 secretora (Hecht, 1999; Hornef *et al.,* 2004; Keshav, 2006), defensinas (Porter *et al*., 1997a,b; Bevins, 2005; Poindexter *et al*., 2009), tripsina (Bohe *et al*., 1984), α-1-antitripsina, inmunoglobulina A (Satoh *et al*., 1986; Tang *et al.,* 2006), angiogeninas

(Eckman, 2005), lectinas que se unen a los azúcares de ciertos microorganismos, ADNasa, fosfolipasa B, lipasas, prostaglandinas E2 (PGE2), carboxilesterasa, metales pesados (cadmio, cobre, selenio, zinc), proteínas ligadoras de zinc, factor de necrosis tumoral tipo α (TNT-α), RegIII, angiogenin-4, MMP-7, CD15, CD95 ligando, xantina oxidasa, CRIP, metalotionina, adipoquinas, suero amiloideo A, IL-17A, IL-1β y lipoquinas (Ross *et al.,* 1992; Porter *et al.,* 2002; Eckman, 2005; Rizvi y Wong, 2005; Clevers y Bevins, 2013).

Ultraestructuralmente las CP presentan un retículo endoplásmico rugoso bien desarrollado, de localización basolateral, un complejo de Golgi supranuclear, pequeños repliegues en su membrana apical y numerosos gránulos rodeados por una membrana (Fawcet, 1995; Geneser, 2000; Mantani *et al*., 2014). Se pueden diferenciar 2 tipos de CP según la morfología de sus gránulos secretores; el tipo I que presenta gránulos bipartidos con un centro electrodenso y un halo periférico electrolúcido (ratón) y el tipo II que tiene gránulos homogéneos y con una matriz altamente electrodensa (humanos, monos y hámsters); en el caso de la rata y el hámster dorado los gránulos tienen variadas densidades electrónicas (Satoh *et al.,* 1990), mientras que en el caballo, las células tipo I son células inmaduras y las células tipo II son células altamente secretoras (Takehana *et al.,* 1998). La activación de la función antimicrobiana de las enzimas presentes en las CP coincide con el punto de maduración de estas células y pueden ser usados como marcadores de la estirpe celular (Ouellette y Selsted, 1996).

La degranulación de las CP se da por exocitosis y está relacionado a un incremento de calcio citosólico (Satoh *et al*., 1995), regulado por estímulos colinérgicos que pueden derivar de neuronas entéricas, productos bacterianos como lipopolisacáridos, péptidoglicanos, ácido lipoteico, lípido A y muranil dipéptido (Ayabe *et al*., 2002), y estímulos hormonales como colecistoquinina (CCK) y gastrina (Balas *et al*., 1985; Satoh *et al.,* 1989; Porter *et al*., 2002), probablemente mediado por NOD2 (Lala *et al.,* 2003) y TLR9 (Rumio *et al*., 2004). A su vez, las CP responden a productos de la digestión presentes en el lumen, principalmente macromoléculas que actúan como osmoreceptores, y a señales secundarias de otras células epiteliales o del tejido conectivo, cumpliendo un rol de comunicación celular durante procesos fisiológicos y patológicos (Porter *et al*., 2002). La respuesta de las CP al medio ambiente intestinal está relacionado con cambios en su número, tamaño y localización, así como con las características morfológicas e histoquímicas de sus gránulos (Porter *et al*., 2002; Grootjans *et al*., 2011).

Las CP son importantes en la activación de linfocitos T de la lámina propia, los que secretan interleucinas que a su vez inducen los procesos de diferenciación de las CP (Sawada *et*

al., 1991; Kamal *et al*., 2001). Así mismo, la lisozima y la fosfolipasa A2 son secretados en respuesta a la proliferación de la microbiota en los espacios intervellosidades (Yokoo *et al.,* 2011), que es activada por el receptor tipo Toll 2 expresado en las células epiteliales (Mantani *et al*., 2011).

2.5.6 Células enteroendocrinas (CEE)

Las CEE, son células secretoras de hormonas que se localizan de forma individual y dispersa en el eje cripta vellosidad; comprenden aproximadamente el 1% de las células que conforman el epitelio intestinal (Sternini *et al.,* 2008; Worthington *et al.,* 2018). Este sistema endocrino intestinal ha sido estudiado en diferentes mamíferos como el hombre, el caballo, bovinos, marsupiales, rumiantes domésticos y silvestres (Sundler *et al*., 1989; Lucini *et al.,* 1999; Nozawa *et al*, 2009), encontrándose en todos ellos una gran variedad de tipos de CEE (Cuadro 1) que se distribuyen en todo el tracto intestinal y pueden ser clasificadas en base a su localización, morfología, expresión de productos secretorios y abundancia de moléculas marcadoras (Jenny *et al.,* 2002, Lee *et al.,* 2002; Höker y Wiedenmann, 2006). La ubicación y cantidad de las CEE depende de la edad, del segmento del tracto gastrointestinal y de la especie animal, aunque en líneas generales sigue un patrón similar en la mayoría de especies (Sundler *et al.,* 1989; Ferrufino, 1996; Rehfel, 1998).

Las CEE tienen un citoplasma claro, núcleo esférico, vesiculoso y poseen pequeños gránulos acidófilos de localización basal (Ross *et al.,* 1992). Estos gránulos son vesículas secretorias que pueden ser grandes con núcleo denso o microvesículas, más pequeñas similares a las encontradas en neuronas (Wiedenmann *et al*., 1986). Se ubican en la zona basal y zona media de la vellosidad (Gordon y Hermiston, 1994); son una de las primeras células que aparecen en la etapa fetal; observándose en porcinos desde los 40 días de gestación (Dekaney *et al.,* 1997), y en bovinos desde los de 90 días de gestación (Totzauer, 1991).

Las CEE son parte del sistema endocrino difuso, que comprende un grupo de células morfológica y embriológicamente muy heterogéneo, distribuidas a lo largo de todo el epitelio. Tienen como función principal la producción y almacenaje de hormonas y neurotransmisores como neuroaminas biogénicas y neuropéptidos (Kasprzak *et al*., 2007; Belli, 2009). Su función está regulada por el sistema nervioso entérico y por cambios en el lumen intestinal (Cunningham, 2005). Coordinan la homeostasis digestiva a través de la regulación de la secreción gástrica, la motilidad intestinal, la secreción pancreática, la contracción de la vesícula biliar y el hambre (Ferrufino *et al*., 1996; Begg y Woods 2013; Gribble y Reimman, 2016). También tienen acción

sobre la proliferación del epitelio intestinal (Lucini *et al.*, 1999; Wierup, 2007) y la detección y neutralización de patógenos, esta última función se relaciona con que expresan TLR 4, 5 y 9, que estimulan la liberación de quimiocinas y defensinas (Palazzo *et al.,* 2007).

Las principales células enteroendocrinas intestinales son las siguientes:

Células Enterocromafines (EC): es la población celular enteroendocrina más abundante del tracto gastrointestinal, su población representa alrededor del 70% de las CEE en el colon y alrededor del 40% en recto. Se distribuyen n desde el antro gástrico hasta el recto (Sjolund *et al*., 1983). Presentan gránulos pleomórficos de 150 a 500 nm (Solcia *et al.,* 1998), son las encargadas de producir serotonina, lo cual se puede observar mediante inmunohistoquímica (Ahlman y Nilsson, 2003; Gunawardene *et al*., 2011). Tienen forma piramidal, de un tamaño de 8 micrómetros y liberan su producto hacia la luz intestinal mediante exocitosis (Modlin *et al*., 2006), es por ello que cuando las descubrieron no fueron consideradas como células enteroendocrinas. Hay reportes que indican que estas células tienen comunicación con neuronas del tracto gastrointestinal participando en procesos de regulación de la función digestiva (Gustafsson *et al.,* 2006).

Células L: es la segunda población más abundante de CEE en el epitelio intestinal, alrededor del 14% (Sjolund *et al*., 1983; Eissele *et al*., 1992). Se distribuyen en la zona media y basal de las vellosidades de todo el intestino delgado (Eisselle *et al.,* 1992), y en la zona media y apical de las criptas en el intestino grueso; su número y distribución varía según la especie; en cerdos y humanos, el mayor número se ubica en yeyuno distal e íleon; mientras que en ratas es en íleon (Deacon *et al*., 1995). Presentan gránulos de 200 a 400 nm de diámetro en su citoplasma (Gunawardene *et al.,* 2011).

La principal secreción de las células L son los péptido tipo glucagón 1 (GLP-1) y 2 (GLP-2) (Varndell *et al*., 1985) que son potentes hormonas que también son secretadas por poblaciones neuronales en el núcleo caudal del tracto solitario y en el núcleo ventrolateral del hipotálamo (Merchenthaler *et al.,* 1999; Jin *et al*., 2004). Tienen como función regular las vías de homeostasis energética, a través de la regulación de glucosa, y estimular la secreción y biosíntesis de insulina en las células β (Baggio y Drucker, 2007; Holst, 2007; Müller *et al*., 2019; Goldspink *et al.,* 2020), disminuir la secreción de glucagón y promover en el páncreas el crecimiento de las células β (Drucker, 2006).

Cuadro 1: Tipo de células enteroendocrinas (CEE) y su distribución en el tracto gastrointestinal

CEE	Producto	Distribución	Autor
G	gastrina	antro gástrico, duodeno	Friis-Hansen *et al*., 1998
EC	serotonina	estómago, intestino	Ormsbee y Fondacaro, 1985; Adriaenssens *et al.,* 2015
ECL	histamina	estómago	Feldman *et al.,* 2006; Yakabi *et al.,* 2008
X/A (ratones) P/D1	grelina	estómago	Sakata y Sakai, 2010; Monserrat *et al.,* 2015
D	somatostatina (SST)	estómago, duodeno	Penman *et al*., 1983;
S	Secretina	duodeno, yeyuno	Brubaker, 2012
L	péptido tipo glucagón (GLP) 1 y 2, oxintomodulina, péptido YY, péptido tipo insulina 5	de duodeno a colon	Fiocca *et al*. 1987; Nilsson *et al*., 1991; Grosse *et al.,* 2014
I	colecistoquinina (CCK)	duodeno, yeyuno	Brubaker, 2012;
N	neurotensina (NT)	íleon	Kitabgi y Freychet, 1978; Rindi *et al*., 2004
K	GIP	duodeno, yeyuno	Parker *et al*., 2009
M	motilina	duodeno, yeyuno	Daniel, 1990; Rindi *et al.,* 2004; Goswami *et al*., 2015
P	GRP	estómago, intestino delgado	Buffa *et al.,* 1978
PP o F	polipéptido pancreático	páncreas, duodeno	Buffa *et al.,* 1978; Olvera-Granados *et al.,* 2008

El GLP-1 y el GLP-2 inducen el aumento del número de células intestinales y de la masa de la mucosa intestinal, mediante la estimulación de la proliferación celular y la inhibición de la apoptosis (Drucker, 2003). También están relacionados con el control del apetito (Turton *et al*., 1996; Müller *et al*., 2019). Tanto el GLP-1 y el GLP-2 son factores de crecimiento epitelial (Dube *et al.,* 2006; Koehler *et al.,* 2015) y tienen acción antiinflamatoria de forma directa (Ivory *et al*., 2008) y en forma indirecta estimulando a las CP (Cani *et al.,* 2007). Participan en procesos de reparación del epitelio en cuadros inflamatorios crónicos como en la enfermedad inflamatoria

intestinal (Xiao *et al*., 2000). Las células L también secretan oxintomodulina, péptido YY y glicentina (Fiocca *et al.,* 1987; Nilsson *et al.*, 1991; Gunawardene *et al.,* 2011; Grosse *et al.,* 2014). La secreción de las células L es estimulada principalmente por la glucosa y menor proporción por la fructosa en el lumen intestinal (Kuhre *et al.,* 2014).

Células K: son una población de CEE que secretan polipéptido insulinotrópico dependiente de glucosa (GIP) que es una hormona que promueve la homeostasis de la glucosa y está relacionada con cuadros de obesidad (Wang *et al.,* 2003). Las células K se ubican predominantemente en la parte más proximal del intestino delgado con alta densidad en duodeno (Mortensen *et al.,* 2003).

El GIP y el GLP son consideradas incretinas, y su secreción es estimulada por la ingesta de alimento (carbohidratos, grasa y proteínas). La activación del sistema adenosin monofosfato cíclico (cAMP), estimula la secreción tanto de GLP-1 and GIP (Moss *et al*., 2012; Hauge *et al.,* 2014; Svendsen *et al.*, 2015). Tiene la función de estimular la proliferación de las células β del páncreas, estimula la biosíntesis de insulina y la secreción de glucagon (Deacon y Ahrén, 2011); promueve la acumulación de grasa y tiene efecto sobre los osteoblastos (Miyawaki *et al.*, 2002; Tsukiyama *et al.,* 2006). GIP juega un rol importante en el mantenimiento de los niveles de glucosa sanguínea por inducir la hipersecreción de insulina en dietas altas en grasa, lo que genera obesidad. Además, potencia la acción de la lipoproteína lipasa para aclaramiento de quilomicrones y triglicéridos (Harada *et al.,* 2008).

Células I: son CEE distribuidas en el epitelio de duodeno, yeyuno e íleon proximal de diferentes especies como el humano, rata, ratón (Chao y Hellmich 2012; Gribble y Reimann, 2015; Fakhry *et al*., 2017; Martins *et al.,* 2017). Son las encargadas de secretar colecistoquinina (CCK), que es un péptido de 33 aminoácidos (Rehfeld *et al.,* 2007; Agersnap y Rehfeld, 2014), liberado mediante exocitosis en respuesta a la presencia de grasas y proteínas en el intestino (Sternini *et al.,* 2008; Agersnap y Rehfeld, 2014).

La CCK induce la contracción de la túnica muscular, favoreciendo el vaciado del intestino delgado distal (Palazzo *et al.,* 2007); incrementa la motilidad del intestino delgado, estómago y esfínter pilórico; disminuye la contracción del esfínter esofágico inferior, aumenta la secreción biliar la secreción de pepsinógeno gástrico y la secreción de las glándulas de Brünner; inhibe de forma débil la secreción ácida del estómago, estimula la secreción de bicarbonato y de insulina en el páncreas y participa en la regulación de la saciedad por activación de fibras vagales aferentes (Owyang, 1996; Beglinger y Degen, 2004; Agersnap y Rehfeld, 2014).

Diversos estudios en ratón han demostrado que cerca del 60% de las células I que producen CCK también producen serotonina, pero estas se ubican en el intestino grueso (Cho *et al.*, 2014; Reynaud *et al*., 2016), principalmente en ciego y colon ascendente (Fakhry *et al.,* 2017).

Células S: Son CEE distribuidas en el epitelio intestinal del duodeno, producen secretina cuya función es regular el desarrollo de células epiteliales del páncreas y sistema biliar. La secretina actúa mediante la unión a su receptor expresado en el dominio basolateral de diversos tipos celulares (Afroze *et al*., 2013).

En el páncreas, la secretina estimula la secreción de bicarbonato y agua, que constituye como sistema tampón en el duodeno ante la llegada de contenido estomacal, como así también disminuye la secreción de H+ por células parietales del estómago (Osnes *et al*., 1978; Chow, 1995). El principal estímulo para la secreción de las células S, es la disminución del pH en la zona más proximal del duodeno (Christodoulopoulos *et al.,* 1961; Hegyi y Petersen, 2013).

La secretina actúa mediante la acción del segundo mensajero AMPc, que produce la liberación del bicarbonato en el páncreas, causando neutralización del medio ambiente ácido en el duodeno, y estableciendo un pH que optimiza la funcionalidad de las enzimas amilasa pancreática y la lipasa pancreática (Henriksen y de Muckadell, 2000). Así mismo la secretina incrementa la secreción de bicarbonato en las glándulas de Brünner; mecanismo que también sirve de tampón para la acidez del quimo (Osnes *et al.,* 1978).

Células N: son CEE que se ubican en el epitelio del intestino delgado y colon proximal; han sido identificadas en diferentes especies animales como el bovino, el humano, el ratón, la rata y el perro (Kitabgi *et al*., 1976; Ferris *et al*., 1985; Drewe *et al*., 2008; Li *et al.,* 2018). Las células N secretan neurotensina (NT) que es una hormona que también es secretada por algunas neuronas del sistema nervioso central (Walsh, 1987), células cromafines de la médula adrenal y células del páncreas (Goedert *et al*., 1984); es considerado un péptido anorexigénico, pero con acción metabólica (Ratner *et al*., 2016)

La NT es un tridecapéptido cuya liberación es estimulada por la ingesta de alimento rico en grasas (Ferris *et al*., 1985; Barber *et al*., 1991), por los ácidos biliares, por el ácido gástrico y por el jugo pancreático (Hammer *et al.,* 1988) y es inhibida por los niveles altos de proteínas y carbohidratos en el lumen intestinal (Rossel y Rökaeus, 1979). La NT participa en la absorción de ácidos grasos libres en el intestino delgado, contribuye al metabolismo de los lípidos y afecta la homeostasis de la glucosa a través de la regulación de la secreción de insulina y polipéptido

pancreático dependiente de glucosa (Blackburn *et al*., 1981; Mazella *et al*., 2012; Li *et al*., 2018). Su producción en periodos de ayuno está relacionada a presentación de enfermedades metabólicas como diabetes mellitus (Li *et al.,* 2016b); así como a riesgos de enfermedad cardiovascular y cáncer de mama.

La NT promueve los procesos absortivos por diferentes mecanismos como el incremento del flujo sanguíneo a nivel del íleon (Hammer *et al*., 1988), secreción de amilasa pancreática (Wood *et al*., 1988) y aumento de la secreción biliar (Gui *et al.,* 2000), el efecto directo sobre la secreción ácida biliar es mediada por el estímulo de contracción de la vesícula y el conducto biliar (Yamasato y Nakayama, 1988) y la reabsorción de sales biliares en el íleon estimulando la circulación enterohepática (Gui y Carraway, 2001). Asimismo, la NT estimula la secreción de agua y electrolitos a nivel intestinal (Wiklund *et al.,* 1984), regula la motilidad del TGI disminuyendo la velocidad de tránsito en estómago y duodeno, lo cual promueve movimientos intestinales para optimizar los procesos absortivos (Kalafatakis y Triantafullou, 2011).

La NT secretada por las células N intestinales puede pasar al torrente sanguíneo y actuar como una hormona endocrina, sobre el sistema nervioso central (Gevaert *et al*., 2016). Al igual que otras hormonas intestinales, la neurotensina puede ser cosecretada en otras CEE (Egerod *et al*., 2012; Habib *et al*., 2012; Sykaras *et al*., 2014; Svendsen *et al*., 2015). En colon proximal de ratón ha sido identificada la producción de neurotensina y péptido YY en la mismas CEE (Roth *et al*., 1992), así como también células que producen NT y GLP-1 (Svendsen *et al*., 2015).

Las células N que producen solo neurotensina se ubican en la zona apical-media de las vellosidades, mientras que las células que producen 2 o más hormonas se localizan en la zona basal de la vellosidad o zona apical de la cripta (Grunddal *et al*., 2016). Así mismo estas hormonas tienen efecto sinérgico en otras regiones, como en sistema nervioso central donde la NT junto con el GLP-1 disminuyen el consumo de alimento; en estómago ambas hormonas junto con el péptido YY inhiben el vaciamiento gástrico (Ratner *et al.,* 2016).

Células M: son CEE ubicadas en el intestino delgado principalmente en duodeno y han sido descritas en diversas especies animales (Kato *et al.,* 2019). Su producto principal es la motilina (Kitazawa y Kaiya, 2019).

La motilina es una hormona cuya función principal es incrementar la contracción de músculo liso intestinal (Mitznegg *et al.,* 1977), a través de la estimulación del complejo mioeléctrico interdigestivo, que es vital para la activación del musculo liso del TGI por permitir

que progrese el contenido intestinal (Al-Missri *et al.,* 2019). Así también produce contracción de la vesícula biliar, esto se produce en los periodos interdigestivos, momentos en los cuales se incrementa la actividad motora que se propaga de craneal a caudal. La secretina tiene acción inhibitoria de la motilina lo que produce una disminución de la motilidad interdigestiva (Mitznegg *et al*., 1977).

La motilina actúa a través de sus receptores que se encuentran en el músculo liso gastrointestinal, neuronas entéricas y aferentes vagales. La activación del receptor produce un incremento del calcio intracelular y del diacilglicerol en el músculo liso produciendo la contracción (Kitazawa y Kaiya, 2019). La motilina también puede unirse al receptor de grelina, pero no a la inversa. Durante la gestación, las células M disminuyen la secreción de motilina, lo que causa hipomotilidad del tracto digestivo (Al-Missri *et al*., 2019).

La liberación de motilina ocurre periódicamente y aumenta durante los periodos de ayuno (Korimilli y Parkman, 2010). La ingesta de alimento, especialmente la que contiene grasas, sirve como estímulo para la secreción de motilina, mientras que el aumento de niveles de glucosa en el lumen intestinal disminuye su secreción (Christofides *et al*., 1979; Al-Missri *et al*., 2019). Durante los periodos interdigestivos, la motilina aumenta la secreción de agua y proteínas en eel páncreas exocrino, lo que colabora en los procesos digestivos (Magee y Naruse, 1984).

2.5.7 Células sensitivas o células en cepillo

Las células sensitivas, también llamadas células en cepillo, son células del epitelio intestinal consideradas raras y han sido poco estudiadas, se distribuyen desde el estómago (Jarvi y Keyrilainen, 1956) hasta el colon (Isomaki, 1962; Silva, 1966; Okamoto *et al.,* 2008). Tienen como característica principal el poseer microvellosidades largas y gruesas que contienen proyecciones profundas de actina, villina y fimbrina que se extienden desde la punta de cada microvellosidad y se enraízan en el citoplasma apical. Poseen abundantes vesículas apicales que forman un sistema tubulovesicular, un aparato de Golgi en la zona apical del núcleo (Sato y Miyoshi, 1988), un retículo endoplásmico rugoso, vesículas secretoras, desmosomas y uniones estrechas que lo unen a las células vecinas (Nevalainen, 1977). Son células que presentan una alta tasa de recambio similar a los enterocitos (Tsubouchi y Leblond, 1979; Barker, 2014).

Las células recién diferenciadas expresan el marcador de proliferación Ki67 (von Moltke *et al*., 2016). Se considera que están involucradas en la captación de sustancias químicas del contenido luminal, expresan proteínas de sensación del gusto como alfa gusducina, Trpm5, y

secretan opioides en respuesta a nutrientes luminales (Hofer *et al*., 1996; Kokrashvili *et al.,* 2009; Gerbe *et al*., 2011).

Antiguamente se consideraban que eran un tipo de CEE (Kokrashvili *et al.,* 2009), sin embargo otros estudios han demostrado que es un cuarto linaje secretor (Gerbe *et al.,* 2011). Estas células provienen de las células madre de tipo Lgr5+ (Gerbe *et al*., 2011) pero a diferencia de las otras células epiteliales, las células en cepillo continúan expresando Lgr5 después de su diferenciación (Itzkovitz *et al*., 2011; Mckinley *et al*., 2017). Este tipo celular depende de Atoh 1 para su formación lo cual la orienta en la línea secretora (Jensen *et al.,* 2000), la supresión de Neurog3 no influye en el proceso de diferenciación de estas células, a diferencia de las CEE que, si requieren de su expresión, tampoco requieren de Sox9 que es necesario para la diferenciación de CP, y de Gfi1 y Spdef que son necesarios para la diferenciación de CCAL y CP. Algunos estudios demostraron que el marcador en células madre DCLK1, están relacionados con su proceso de diferenciación (Gerbe *et al.,* 2011).

2.6 ESTRUCTURA DE LA BARRERA INTESTINAL

La barrera intestinal, es una estructura morfológica y funcionalmente compleja, que separa el medio externo del interno, impidiendo o modulando el ingreso de microorganismos, toxinas y macromoléculas desde el lumen intestinal hacia la sangre y linfa (Alpers, 2002; Wiest y Rath, 2003; Camilleri *et al.,* 2012; Salvo-Romero *et al*., 2015). La barrera intestinal forma parte de la inmunidad innata, porque constituye una primera línea de defensa, y juega un rol crucial en las funciones fisiológicas de digestión, absorción y metabolismo (Farré *et al.,* 2020).

Está formada por componentes mecánicos, químicos y celulares distribuidos en tres niveles: extraepitelial, epitelial y subepitelial (Figura 1). El componente mecánico es la barrera física formada por la capa de mucus y el glicocalix que se ubican entre la zona apical del epitelio y las sustancias en el lumen intestinal, y la peristalsis intestinal (Salvo-Romero *et al*., 2015), que es un proceso regulado por las células enteroendocrinas y las del sistema nervioso entérico. El componente químico está formado por moléculas de reconocimiento de patógenos, inmunoglobulinas, péptidos que inducen la destrucción de microorganismos y citocinas que organizan la respuesta inmune. El componente celular está formado por las células del epitelio intestinal y células de la lámina propia como mastocitos, células dendríticas, células fagocíticas como macrófagos y granulocitos, células natural killer, células T (Elphick y Mahida, 2005; Bevins, 2006) y fibroblastos.

El nivel extraepitelial está formado por un microambiente que da hacia la luz del intestino y está compuesto por las secreciones celulares como péptidos antimicrobianos (lisozima, fosfolipasa A2, defensinas), enzimas digestivas (proteasas, amilasas, lipasas) (Sarker y Gyr, 1992), que son producidas por los diferentes tipos celulares del epitelio intestinal. La capa de moco de aproximadamente 100 µm de espesor está producida por las CCAL y por las glándulas mucosas presentes en el intestino, estas glicoproteínas secretadas (en especial MUC- 2) se hidratan formando una barrera física que previene las interacciones entre la microbiota y el epitelio intestinal y atrapa bacterias que luego serán removidas por peristalsis (Qin *et al.,* 2008, Sender *et al.,* 2016). La microbiota comensal que participa en el mantenimiento de la microbiota presente en el lumen y estimula la secreción y proliferación de las células de la mucosa.

La capa de mucus es la primera barrera física que entra en contacto con la microbiota del TGI, está compuesta de dos capas, una interna que es delgada y que está adherida al epitelio intestinal (Everard *et al*., 2013). Es la encargada de mantener la protección de las células epiteliales frente al daño enzimático (Ugolev y De Laey, 1973) así como facilitar la absorción de nutrientes y procesos de renovación y diferenciación de las células epiteliales (Shan *et al*., 2013). La segunda capa es la externa, donde se encuentran las secreciones de las células epiteliales como (Gill *et al*., 2006) inmunoglobulina A secretora, fosfolípidos, mucinas, lisozima, fosfolipasa A, péptido trefoil, catelicidinas y defensinas (Figura 1) (Bevins *et al.,* 2011).

Esta capa de mucus se encuentra en contacto permanente con la microbiota del lumen intestinal y está regulada por cambios en la microbiota (Everard *et al*., 2013). La capa de mucus está formada en un 95% de agua y 1 a 10% de glicoproteínas, electrolitos, anticuerpos y ácidos nucleicos (Macfarlane *et al*., 2005). La mucina 2 (MUC-2) es la principal proteína glicosilada que conforma esta capa de moco, que al hidratarse expande la barrera y unida a otras proteínas secretadas conforman una pared mucosa organizada (Deplancke y Gaskins, 2001). Los cambios en esta capa de mucus se dan por disrupción del equilibrio microbiota, secreción celular, etc. (Kissoon-Singh *et al*., 2013).

En la parte luminal de la barrera intestinal, la fosfatasa alcalina cumple una función importante en el mantenimiento de la microbiota. Esta sustancia es secretada por las células epiteliales y permanece activa dentro de la capa de moco, así como en el lumen intestinal. Elimina los grupos fosfato de la endotoxina bacteriana LPS y de los patrones moleculares asociados a patógenos como flagelina, CpG ADN, reduciendo la respuesta inflamatoria local (Lallès, 2014). Además, fosforila al ATP y ADP en el lumen intestinal, permitiendo el desarrollo de microbiota

comensal, ya que altos niveles de ATP inhiben el desarrollo de bacterias comensales (Malo *et al*., 2014).

El nivel epitelial está formado por células epiteliales que recubren todo el intestino y las uniones intercelulares (uniones estrechas) que limita el transporte paracelular de la microbiota y de sus productos hacia el torrente sanguíneo (den Besten *et al.,* 2013; Salvo-Romero *et al*., 2015). Las células epiteliales presentan receptores de reconocimiento de patrones (PRRs) que se unen a dominios altamente conservados denominados patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs). El nivel subepitelial incluye a la lámina propia y las células que lo componen como macrófagos, células dendríticas y miofibroblastos, estas células presentan receptores de reconocimiento, moléculas señaladoras que coordinan respuestas de defensa, incluyendo la comunicación con el sistema inmune con las células epiteliales, así como la producción de moléculas efectoras para la inhibición y eliminación (Elphick y Mahida, 2005; Bevins, 2006).

El epitelio intestinal es una capa de células epiteliales altamente selectivas, que no permite el pasaje de antígenos, microorganismos y sus productos, pero si permite el paso de nutrientes (aminoácidos, azúcares), ácidos grasos, agua y electrolitos lo cual es mediado por un transporte transcelular y uno paracelular (Kunzelmann y Mall, 2002; Danielsen y Hansen, 2006; Bröer, 2008). Las uniones intercelulares están formadas por estructuras del citoesqueleto celular (filamentos intermedios y microfilamentos) Algunas proteínas como ocludinas, claudinas, microfilamentos de actina, se unen entre si e interactúan con las de las células vecinas, formando las uniones y regulando de esta manera el transporte paracelular (Clayburgh *et al*., 2004; Visser *et al*., 2009, Keita y Söderholm, 2010), que le confiere al epitelio la permeabilidad selectiva e integridad de la barrera intestinal.

Las CP actúan como un efector importante de la inmunidad innata, a través de la secreción de péptidos antimicrobianos (Zasloff, 2002) como las defensinas que tiene acción directa sobre las bacterias gram positivas y gram negativas (Kaser *et al.,* 2008), además mantienen la homeostasis a nivel de la cripta, manteniendo la viabilidad de las células madre. Los cambios en la secreción de las CP, la activación de los mecanismos de autofagia, y la disminución de su diferenciación están relacionados con la proliferación de microbiota patógena, cuadros inflamatorios o cambios en los niveles de triptófano en la dieta (Wehkamp *et al*., 2007, Cadwell *et al*., 2008; Hashimoto *et al*., 2012). Las células plasmáticas de la lámina propia secretan inmunoglobulina A que tiene la función de limitar de forma directa la interacción de patógenos

con el epitelio intestinal, previniendo la colonización bacteriana y el consecuente daño de las células epiteliales (Mestecky *et al.,* 1999; Santaolalla y Abreu 2012; Farre y Vicario, 2017).

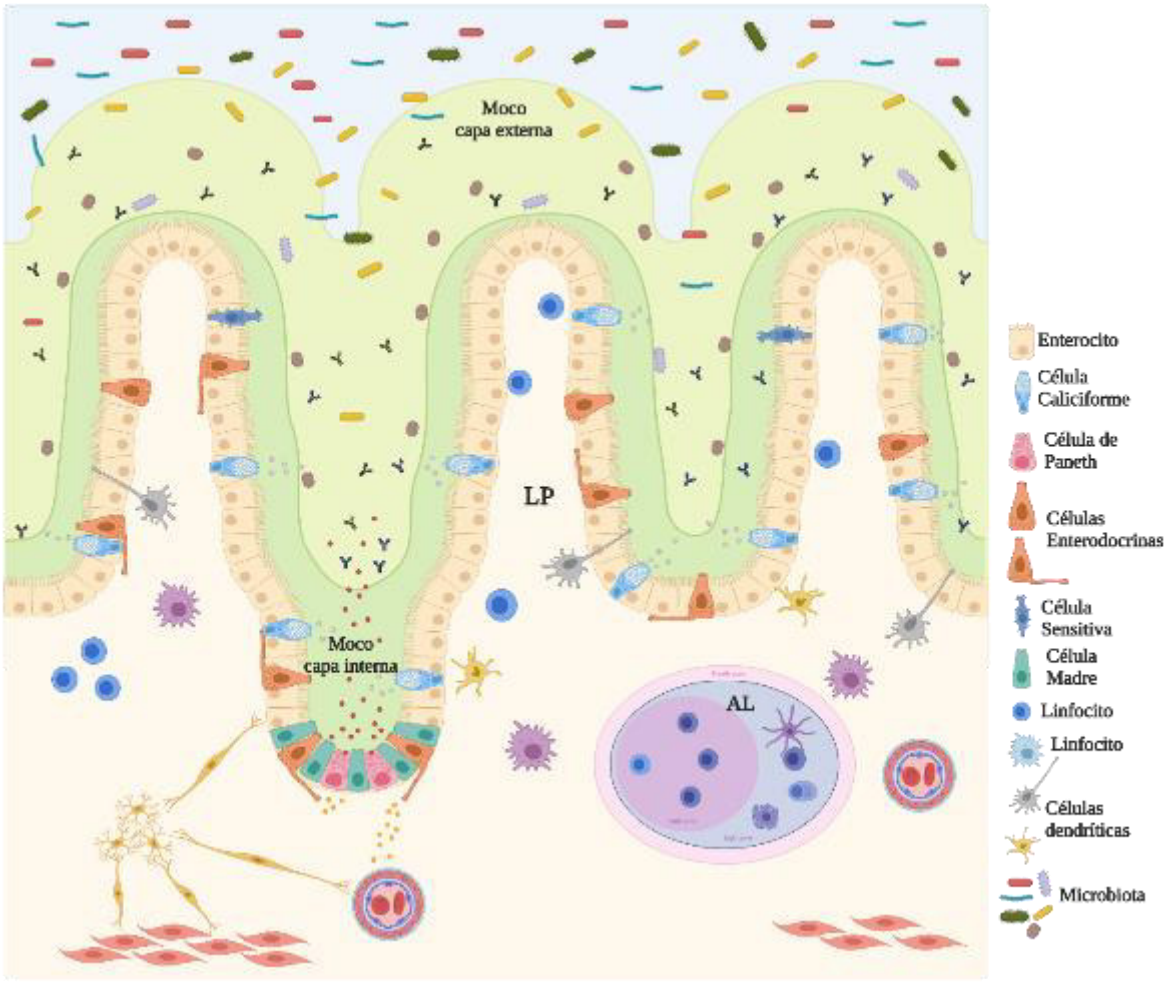


Figura 1: Estructura de la barrera intestinal. *Creado con BioRender.com*

Las diferentes túnicas de la pared intestinal trabajan en forma coordinada para mantener la homeostasis intestinal, el plexo mientérico controla la motilidad y propulsión del intestino manteniendo la microbiota estable; el plexo submucoso controla los procesos de secreción y absorción y ambos plexos mantienen comunicación constante con las células del epitelio intestinal y con las células de la submucosa, creando un ambiente estable para los procesos digestivos y absortivos. Además, no permiten el daño de la mucosa y el ingreso de microorganismos y sus productos (Farré *et al.,* 2020). También existe una comunicación constante con las placas de Peyer y las células M, quienes junto con las CCAL juegan un rol importante en los procesos de tolerancia intestinal (Allaire *et al*., 2018a).

Los estímulos eferentes vagales y simpáticos extrínsecos y del sistema nervioso entérico influyen en la estructura y función de la barrera intestinal, de forma directa a través de acetilcolina y el polipéptido vasoactivo intestinal, la expresión de proteínas de las uniones estrechas y la interacción con células del sistema inmune como mastocitos y células plasmáticas (Kim y Ho, 2010). En condiciones de estrés y de inflamación algunos mediadores producidos por los mastocitos como TNFα, triptasa, factor de crecimiento nervioso (NGF) e interleucinas alteran la expresión de claudinas en las uniones estrechas, afectando la permeabilidad de la membrana. Por otra parte, la liberación de serina proteasa de los mastocitos activa el PAR-2 en las células epiteliales, lo que produce el desensamblado de las uniones estrechas (Bueno y Fioramonti, 2008; Goldblum *et al.,* 2011).

En las primeras etapas de desarrollo postnatal, el intestino sufre adaptaciones tanto a nivel morfológico como funcional; el epitelio madura y mejora los procesos de absorción de nutrientes, con incremento del área absortiva. En esta etapa el TGI es colonizado por la microbiota comensal y la microbiota potencialmente patógena; esta interacción junto con la presencia del alimento, es necesaria para completar el desarrollo del TGI, que en los primeros días sufre un cambio significativo, donde los procesos de proliferación y maduración de las células intestinales cumplen un rol fundamental en el mantenimiento de la integridad de la barrera intestinal (Quaroni, 1985a).

La microbiota comensal influencia la función de la barrera intestinal de forma directa por estimulación de la proliferación de la células epiteliales o por inducción de la producción de citoquinas, y de forma indirecta por la síntesis de nutrientes esenciales como vitaminas y ácidos grasos de cadena corta, que sirven como fuente de energía para las células epiteliales (Schuijt *et al.,* 2013).

La microbiota comensal, el epitelio intestinal y el sistema inmune asociado a mucosas interactúan entre ellos para mantener la homeostasis intestinal en la etapa postnatal. Las células epiteliales juegan el rol más importante porque son la barrera física de separación entre los microorganismos del lumen y las células del sistema inmune. La microbiota comensal influencia la función de la barrera intestinal de forma directa por estimulación de la proliferación de la células epiteliales a través de los patrones asociados a microorganismos (MAMPs) y metabolitos, o por inducción de la producción de citoquinas, y de forma indirecta por la síntesis de nutrientes esenciales como vitaminas y ácidos grasos de cadena corta, que sirven como fuente de energía para las células epiteliales (Ley *et al*., 2006; Goto y Kiyono, 2012; Schuijt *et al.,* 2013). Mientras

que las células del sistema inmune que son activadas por bacterias comensales a través de la activación de receptores de patrones de reconocimiento tipo Toll (TLRs) y receptores de dominios tipo NOD (NLRs) (Vance *et al*., 2009, Takeuchi y Akira, 2010), afectan las funciones del epitelio mediante la producción de citoquinas inflamatorias como TNF. Por otro lado, citoquinas inflamatorias producidas en la mucosa como TNF, linfotoxinas e IL-6 contribuyen a la formación de tejidos linfoides secundarios y a producción de Ig A y diferenciación de linfocitos T para el mantenimiento de la homeostasis intestinal (Goto y Kiyono, 2012).

De igual manera, las secreciones de las células epiteliales, así como los productos de la microbiota y de la degradación de los alimentos, modifican el pH del lumen y de la mucosa intestinal, el cual se debe mantener en niveles homeostáticos para cada porción intestinal, ya que su alteración producen cambios en la microbiota y en los procesos de diferenciación y secreción del epitelio intestinal (Arnoldini *et al*., 2018).

El pH determina la composición de la microbiota presente en cada porción intestinal (Duncan *et al.,* 2009), y los cambios que se puedan producir en el pH modifican la sensibilidad a enfermedades gastroentéricas; tal es el caso de la infección por *Helicobacter pylori*, cuyo medio adecuado para su proliferación es cuando el pH luminal del estómago y de la región pilórica del duodeno se incrementan acercándose a 7. Así mismo, *el H. pylori* tiene una fuerte actividad de la ureasa, produciendo altas concentraciones de amoniaco dentro de la capa de moco por hidrólisis de la urea (Marshall y Langton, 1986; Graham *et al*., 1992). Este incremento de amoniaco en el lumen gástrico produce lesiones en la mucosa gástrica (Tsujii *et al*., 1992; Murakami *et al.,* 1993; Takeuchi *et al*., 1995), retarda la reparación de la mucosa (Suzuki *et al*., 2000) e induce apoptosis de las células epiteliales y células mucosas (Smoot *et al*., 1990; Hagen *et al*., 1997) mediante la liberación del citocromo c de las mitocondrias, seguida de activación de las caspasas 9 y 3 (Suzuki *et al*., 2002), causando gastritis crónica y atrofia gástrica que están directamente relacionadas con el desarrollo del carcinoma gástrico (Marshall y Langton, 1986).

De igual forma, la acidificación de la mucosa ocurre en la sepsis y está relacionada con cuadros de colitis ulcerativa que inducen la producción de óxido nítrico, y el consecuente incremento de la permeabilidad epitelial por daño del citoesqueleto mediado por oxidantes y depleción de ATP (Unno *et al.,* 1997). Estudios en ratas y aves infectadas con *Trichinella zimbabwensis* han demostrado que el aumento del pH y osmolaridad del intestino facilitan el establecimiento y supervivencia del parásito (Tortora y Grabowski, 2003; Magwedere y Mukaratirwa, 2008). De igual manera, estudios sobre *Escherichia coli* han demostrado que su proliferación está relacionada con la acidificación de la mucosa intestinal, a través de la

participación de uroguanilina y guanilina que inducen la secreción de $HCO3^-$ y Cl^- vía transportadores de membrana (Joo *et al.,* 1988), produciendo diarrea de tipo secretor. Por otro lado, estas proteínas son ligandos exógenos para la guanilil ciclasa acoplada a membrana que sirve como receptor para la enterotoxina de la *E. coli* (Vaandrager, 2002).

La infección aguda por *Samonella spp*. produce activación de las vías de señalización de Wnt 1, el cual aumenta la acumulación de B catenina nuclear y la activación de células madre para la incrementar los procesos de proliferación y diferenciación celular en el epitelio intestinal (Liu *et al*., 2010; Lawhon *et al*., 2011; Kogut y Arsenault, 2015; Wang *et al*., 2018). Sin embargo, en infecciones crónicas la *Samonella spp.* disminuye la activación de Wnt 1 por ubiquitinación, e incrementa la activación de las vías de Wnt 11 y 12 favoreciendo la formación de tumores y cáncer colorectal (Wang *et al.,* 2018).

2.6.1 Importancia de los glicoconjugados en la barrera intestinal

Los glicoconjugados son glicoproteínas que poseen cadenas de oligosacáridos o polisacáridos (glicanos) unidos de manera covalente a su estructura polipeptídica; son una clase de carbohidratos complejos. Presentan una o más cadenas de carbohidratos unidos a proteínas mediante enlaces covalentes (para formar glicoproteínas, incluidos los proteoglicanos), o a lípidos (para formar glicolípidos). Los carbohidratos presentes en estos glicoconjugados pueden reconocerse mediante su capacidad de unirse específicamente a distintas lectinas que son proteínas que tienen afinidad específica por algunos monosacáridos libres o formando parte de oligosacáridos (André *et al.,* 2015; Brooks 2017; Kaltner *et al*., 2018).

De acuerdo a las características del enlace entre las cadenas polipeptídica y oligosacárida, las glicoproteínas pueden dividirse en dos clases principales: a) las que contienen un enlace O-glucosídico, en el que participan la serina o la treonina del esqueleto polipeptídico y el azúcar N-acetilgalactosamina; ejemplos de este tipo de glicoproteínas son las mucinas, los proteoglicanos, el colágeno y las escasas proteínas nucleares y citosólicas glicosiladas y b) las que contienen un enlace N-glicosídico del que participa la asparagina y la N-acetilglucosamina. Estas glicoproteínas se dividen en tres grupos: complejas, ricas en manosa e híbridas (Freitas y Cayuela, 2000; Murray *et al*., 2001; Barbeito *et al*., 2005).

Los glicolípidos y glicoproteínas que se localizan en la cara externa de la membrana plasmática de los enterocitos forman el glicocálix, de los cuales muchos de ellos sirven como receptores para adhesión bacteriana (Murray *et al.,* 2001; Barnich *et al.,* 2007; Linden *et al*., 2008). Entre 2 a 10% de carbohidratos, se hallan formando parte de glicoconjugados en el epitelio

intestinal (De Robertis, 2003). El contenido liberado de las CCAL hacia el lumen contiene mucina que al hidratarse en la luz intestinal forma una capa de mucus que protege al epitelio de la abrasión y de la adhesión bacteriana (Zanuzzi, 2010).

La glicosilación se produce principalmente en el retículo endoplásmico y en el aparato de Golgi (Murray *et al*, 2001; Berg *et al*, 2007), donde se encuentran las enzimas glicosiltransferasas y glicosidasas, donde las primeras toman monosacáridos de moléculas donantes (UDP, GDP, CMP) y los transfieren a la cadena oligosacárida en crecimiento, mientras que la segunda cataliza la hidrolisis de un enlace glicosídico (Freitas y Cayuela, 2000).

La identificación de los glicoconjugados presentes en el epitelio intestinal se realiza mediante lectinhistoquímica, técnica por la cual en diferentes especies como humano, rata, cobayo (Gorelick *et al.,* 1982), porcinos (Jaeger *et al*., 1989; Gelberg *et al.,* 1992; Chae y Lee, 1995; Barbeito *et al.,* 2003), conejos (Zanuzzi *et al.,* 2010), caballos (Galotta, 2006) se ha determinado su presencia y las variaciones que muestran en el eje cripta-vellosidad. Con diferencias entre porciones intestinales, entre distintas posiciones del eje cripta vellosidad y entre especies (More *et al*., 1987; Brown *et al.,* 1991; Doehrn *et al.,* 1992). Además, en una misma célula pueden variar durante los procesos de proliferación, diferenciación y maduración celular (Paulson y Colley, 1989). También, existen diferencias en cuadros inflamatorios y neoplásicos (Dube y Bertozzi, 2005), diversos factores como la alimentación, la microbiota, la estimulación del epitelio intestinal, etc. determinan el patrón de glicosilación intestinal (Walker, 1988).

En humanos existen modificaciones en la expresión de glicoconjugados de las células del epitelio intestinal en tumores de estómago y de intestino (Fischer *et al.,* 1984; Danguy *et al*., 1998), y en la enfermedad de Crohn (Cooper *et al.,* 1987). Por ejemplo, Klein *et al*. (1981) describieron que las lectinas PNA y RCA pueden ser usadas como marcadores de células colónicas con diferenciación anormal como en cáncer colónico. Las células de carcinomas colónicos bien diferenciadas tienen afinidad para una o ambas de estas lectinas, a diferencia de lo que sucede con células colónicas normales, las mucinas de las CCAL son las que tienen mayor reactividad, lo que indica que las mucinas en cáncer colónico presentan terminales N-acetilgalactosamina, siendo la presencia de estos glicanos en la mucina el punto de cambio bioquímico que precede a los cambios morfológicos en la transformación de células normales a células malignas.

Diferentes virus, bacterias y hongos expresan en su membrana una amplia gama de lectinas, las cuales les sirven para reconocer y unirse a glicoconjugados presentes en las células

del hospedero, ayudando en la adhesión e invasión celular (Nilsson, 2007). *Salmonella sp*. y *Escherichia coli* poseen lectinas de superficie (Barbeito *et al.*, 2005), que tienen afinidad principalmente por residuos de manosa y galactosa, respectivamente presentes en el glicocalix de las células intestinales (Stryer, 1995; Freitas y Cayuela, 2000).

De igual forma, las bacterias producen una extraordinaria cantidad y diversidad de glicanos, quienes se unen a la superficie celular del hospedero y activan la secreción de moléculas. Las bacterias usan a estos glicoconjugados para multiplicarse y establecerse, y en otros casos para invadir la superficie celular (Tytgat y Lebeer, 2014; Zhu y Wu, 2015). Esta superficie de glicanos ofrece a las bacterias un rango de ligandos específicos que interactúan con el hospedero, lo cual desencadena la producción de estrategias mucolíticas para ser atrapadas en la capa mucosa, lo cual está relacionado al grado de patogenicidad de estas bacterias. Por ejemplo, la capacidad adhesión de las cepas de *Salmonella typhimurium* a la capa de moco intestinal está directamente relacionada con el grado de patogenicidad. *Salmonella typhimurium* produce sialidasa lo cual le permite unirse preferentemente a sialomucinas que contienen ácido siálico (Hoyer *et al.,* 1992; Vimal *et al.,* 2000). Si produce sialidasa lo que hace es sacar ácido siálico y puede unirse a otros residuos

En animales domésticos se determinaron alteraciones de los glicoconjugados en cuadros de enteropatías proliferativas del cerdo (Riganti *et al*., 1997), enterotoxemia del conejo (Jelinek, 1996) y paratuberculosis bovina (Massone *et al*., 1991). Existe una correlación directa entre la capacidad de la bacteria de unirse a un tipo específico de glicoconjugado y su grado de penetración a la barrera intestinal. Cada bacteria presenta enzimas específicas que le permiten degradar glúcidos específicos presentes en la capa moco, permitiendo que las lectinas presentes en la superficie del parásito se unan a glúcidos por los cuales tienen afinidad; tal es el caso de la *Entoameba histolytica,* que posee una glicosidasa que le permite degradar a la N-acetilglucosamina presente en la capa de moco, y las lectinas presentes en la superficie de los trofozoitos se unen a la galactosa/N-acetilgalactosamina presente en el glicocalix de las células epiteliales, lo que permite que el parásito ingrese al epitelio (Chadee *et al*., 1987; Chadee *et al.,* 1988; Belley *et al.,* 1999).

El *Helicobacter pylori* posee una glucosulfatasa que le permite remover el grupo éster sulfato de glicoconjugados sulfatados, lo cual facilita la unión de la bacteria con los glicoconjugados presentes en la membrana de las células epiteliales (Slomiany *et al.*, 1992; Bravo y Correa, 1999). De igual forma, el *H. pylory* tiene la capacidad enzimática de alterar la estructura oligomérica de la mucina, lo que permite que el patógeno se mueva libremente en la capa de moco, asistido por su flagelo altamente activo y su capacidad para disminuir la síntesis de mucina

(Byrd *et al*., 2000; Windle *et al*., 2000). De igual forma, la unión de reovirus en mamíferos a las mucinas es seguido por la expresión de una proteína mucolítica que facilita la penetración del virus a través de la barrera mucosa protectora del intestino (Bisaillon *et al*., 1999).

La fucosilación de las células epiteliales intestinales juega un rol importante en el sistema inmune de mucosas y puede prevenir infecciones con patógenos y el desarrollo de cuadros inflamatorios como colitis y cáncer de colon (Goto *et al.,* 2016, Yu *et al.,* 2019). Así mismo la fucosilación de las células epiteliales intestinales es un mecanismo de simbiosis con la microbiota hospedera, quienes utilizan la fucosa producida como parte de su dieta. Es un mecanismo regulado por la microbiota y por células linfoides innatas del grupo 3 (ILC3s); proceso que requiere de citoquinas como interleucina 22 y linfotoxina para su inducción (Goto *et al.,* 2014); lo cual indica una interacción entre microbiota, células epiteliales e ILC3s (Goto *et al.,* 2016). De igual manera, el operon fimbrial *std* de la *Salmonella typhimurium* codifica las fimbrias Std de clase π que tienen afinidad por las células fucosiladas del intestino, lo cual resulta en la colonización y desarrollo del cuadro inflamatorio (Chessa *et al.,* 2009; Suwandi *et al.,* 2019).

III. MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES

3.1 LUGAR DE EJECUCIÓN

Las muestras de fetos fueron obtenidas de madres sacrificadas en el camal municipal de Ñuñoa, departamento de Puno y del camal Municipal de Huancavelica, departamento de Huancavelica y de madres sacrificadas en comunidades del departamento de Apurímac. Para la obtención de muestras de crías desde los 0 hasta los 45 días de edad, se trabajó en comunidades alpaqueras de Cuzco y Puno ubicadas a 3,800 m sobre el nivel del mar, con alimentación y manejo similares. Estos animales fueron trasladados a la estación del Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura (IVITA) Maranganí, para el desarrollo del trabajo. Las muestras de alpacas adultas provinieron de animales sacrificados en el camal Municipal de Ñuñoa, departamento de Puno. Las muestras obtenidas fueron procesadas y evaluadas en el Laboratorio de Fisiología Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y en el Laboratorio de Patología General del Centro de Diagnóstico de Sanidad Animal del Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA), en la ciudad de Lima, departamento de Lima.

3.2 ANIMALES

Se trabajó con 83 animales distribuidos en 20 fetos, 60 crías y 3 adultos aparentemente sanos (Cuadro 2). Los fetos provenían de madres aparentemente normales y que fueron sacrificadas para consumo humano. La edad de los fetos se determinó mediante el diámetro biparietal fetal (DBP) y la fórmula establecida por Gazitua *et al.* (2001):

$$\text{Edad gestacional} = (\text{DPB} - 0.11376)\ 47.23287$$

Coeficiente de regresión r= 0.98
Significancia P< 0.001

Las crías utilizadas en el presente estudio fueron compradas a productores que tenían registro de nacimiento y que habían sido descartadas de la crianza por el tipo de vellón o por presentar daños en el sistema locomotor. Estos animales fueron trasladados al IVITA Maranganí, donde fueron evaluados antes del sacrificio, se utilizaron solo animales que se encontraban en condiciones aparentemente sanos y que a la necropsia no presentaban lesiones aparentes en otros órganos.

Las muestras de animales adultos fueron tomadas de individuos que al examen físico se encontraban aparentemente sanos y no presentaron lesiones en los órganos internos. El uso y manejo de los animales se realizó de acuerdo a los Principios Directrices Internacionales para la Investigación Biomédica que Implique el Uso de Animal.

Cuadro 2: Distribución de animales según grupo etario

Etapa	Grupo etario	N° animales	Total
Fetal	F1T	4	20
	F2T	11	
	F3T	5	
Postnatal, días	0 a 7	13	60
	8 a 15	9	
	16 a 21	10	
	22 a 27	8	
	28 a 36	10	
	37 a 45	10	
	Adultos	3	3
		Total	83

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días), F2T: fetos de segundo tercio de gestación (111-229 días), F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días).

3.3 METODOLOGÍA

3.3.1 Evaluación de los animales

Los animales (crías y adultos) fueron evaluados antes del sacrificio. Se tomaron constantes fisiológicas como temperatura, frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, retorno venoso, descartando los animales que presentaban deshidratación o signos de trastornos digestivos.

3.3.2 Sacrificio de los animales

Crías: fueron sacrificadas por sobredosis de pentobarbital sódico y luego desangradas; se procedió a la apertura de la cavidad abdominal y se realizó un examen general para descartar lesiones internas.

Adultos: fueron sacrificados siguiendo los protocolos de los camales Municipales de Ñuñoa y Huancavelica. Luego del sacrificio se procedió a la apertura de la cavidad abdominal y con ayuda del personal del camal se realizó la evaluación de los órganos digestivos, escogiendo animales que no presentaban lesiones internas.

3.3.3 Toma de Muestra

Fetos: después del sacrificio de las madres, los fetos fueron retirados del útero y se procedió a la medida del BDP y a la apertura de las cavidades abdominal y torácica. Los fetos pequeños fueron introducidos en recipientes con solución de formol buferado al 10% para su fijación. A los fetos de mayor tamaño se procedió a retirar el tracto gastrointestinal e introducirlo en baldes con formol buferado al 10%. Las muestras fueron trasladadas al Laboratorio de Fisiología Animal en la ciudad de Lima.

El tracto gastrointestinal fue separado por porciones intestinales (duodeno, yeyuno, íleon, ciego, colon ascendente, colon transverso y colon descendente), de los cuales se tomaron muestras longitudinales de aproximadamente 1 cm en 3 puntos distintos de cada porción intestinal, que se fijaron en formol buferado al 10%.

Crías y adultos: después del sacrificio y la apertura de la cavidad abdominal, se retiró todo el tracto intestinal, identificándose las diferentes porciones. En cada porción se procedió a determinar el pH de la mucosa, para luego tomar muestras de aproximadamente 2 cm de longitud en 4 puntos distintos en cada porción intestinal. Las muestras fueron lavadas con una solución de formol al 10% que fue introducida en la luz intestinal con ayuda de una jeringa, luego fueron colocadas en frascos que contenían formol buferado al 10% para su fijación durante un tiempo mínimo de 48 horas y ser transportados al Laboratorio de Fisiología Animal en la ciudad de Lima.

3.3.4 Procesamiento de muestras fijadas en formol

Las muestras fijadas en formol fueron reducidas a una longitud aproximada de 0,5 cm de longitud y puestas en casetes individuales. Se procedió al lavado de las muestras contenidas en los casetes durante 1 hora, luego se las colocó en el equipo de procesamiento de tejidos de la marca Myr modelo STP120 (España) durante 14 h. El proceso consistió en deshidratación,

diafanizado, aclarado e impregnación en parafina (Cuadro 3), según el protocolo estandarizado para muestras de mamíferos, del Laboratorio de Patología General del Centro de Diagnóstico de Sanidad Animal del Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA).

Cuadro 3: Protocolo de procesamiento histológico de muestras de tejidos intestinales de alpacas

	Solución	Tiempo, h	Proceso
1	Alcohol 80%	2	Deshidratación
2	Alcohol 90%	2	
3	Alcohol 95% N° 1	1	
4	Alcohol 95% N° 2	1	
5	Alcohol 100% N° 1	1	
6	Alcohol 100% N° 2	1	
7	Alcohol 100% N° 3	1	
8	Xilol N° 1	1	Diafanizado
9	Xilol N° 2	1	Aclarado
10	Xilol N° 3	1	
11	Parafina N° 1	1	Impregnación a 58°C
12	Parafina N° 2	1	
	Total	14	

Una vez terminado el procesamiento, las muestras fueron retiradas del equipo y se procedió a su inclusión en bloques de parafina (tacos de parafina), para este proceso se utilizó el centro de inclusión de tejidos modular de la marca Myr modelo EC 350 (España). Los tacos preparados fueron cortados en un micrótomo rotatorio de la marca Microm (Thermo Fisher) modelo HM 350S (Alemania) obteniéndose cortes de 4 o 5 µm de espesor según la necesidad de las diferentes técnicas.

Los cortes fueron colocados en láminas portaobjetos convencionales para el desarrollo de técnicas histológicas e histoquímicas y láminas portaobjetos preparadas con poly-L-lisina (Sigma, EE.UU.) para inmunohistoquímica y lectinhistoquímica. Los cortes fueron almacenados en cajas portaláminas para su posterior procesamiento.

3.3.5 Coloraciones desarrolladas

3.3.5.1 Hematoxilina Eosina (H-E)

Esta es una técnica básica en los estudios histológicos. Consiste en el uso de la hematoxilina que es básica y colorea estructuras ácidas (basófilas), a las cuales las tiñe de colores azul y púrpura (zonas ricas en ribosomas y núcleos), mientras que la eosina que es ácida tiñe estructuras básicas (acidófilas) de color rosa (zonas del citoplasma ricas en proteínas) (Cuadro 4)

(AFIP; 1995; Bruce-Gregorios, 2006). Esta técnica se utilizó para estudios morfológicos, e identificación de enterocitos, CP y CCAL.

3.3.5.2 Tricrómico de Masson

Es una técnica de coloración especial que es una variedad dentro de las coloraciones policrómicas en las que se utilizan tres colorantes y que permiten la demostración selectiva de diferentes tejidos. Se utiliza para la identificación y diferenciación entre fibras musculares y colágenas, así como para diferenciar fibrina y eritrocitos. Mediante esta técnica se puede realizar una buena observación de fibras colágenas y hacer su diferenciación desde edades muy tempranas. Mediante esta coloración se pueden observar las fibras colágeno de color verde, lo cual significa que el tejido conectivo será de color verde. Las estructuras oxidadas como citoplasma, glóbulos rojos y tejido muscular se tiñen de rojo y los núcleos de color azules violáceos (Cuadro 5) (AFIP, 1995). Esta técnica fue utilizada en estudios morfológicos del epitelio intestinal e identificación de CP.

Cuadro 4: Protocolo de coloración de muestras de intestino de alpacas con Hematoxilina-Eosina

Proceso	Solución	Tiempo
Desparafinado	Xilol 1	10 min
	Xilol 2	5 min
Desengrasado	Alcohol 100° 1	10 min
	Alcohol 100° 2	5 min
Hidratación	Alcohol 96° 1	5 min
	Alcohol 90° 2	5 min
	Alcohol 80°	5 min
	Alcohol 70° 1	5 min
Lavado	Agua destilada 1	5 min
	Agua destilada 2	5 min
Coloración	Inmersión en Hematoxilina	3 min
Viraje	Agua destilada	3 min
Lavado	Agua corriente	5 min
	Agua destilada	5 min
Coloración	Inmersión Eosina	3 min
Enjuague	Alcohol 70°	3 inmersiones rápidas
Deshidratación	Alcohol 95° 1	5 inmersiones rápidas
	Alcohol 95° 2	5 inmersiones rápidas
	Alcohol 100° 1	5 inmersiones rápidas
	Alcohol 100° 2	5 inmersiones rápidas
	Alcohol 100° 3	5 inmersiones rápidas
Aclarado	Xilol 1	5 min
	Xilol 2	5 min
Montaje	Permount	

Cuadro 5: Protocolo de coloración de muestras de intestino de alpacas con Tricrómico de Masson

Proceso	Solución	Tiempo
Desparafinado	New clear 1	10 min
	New clear 2	10 min
Desengrasado	Alcohol 100° 1	10 min
	Alcohol 100° 2	5 min
Hidratación	Alcohol 96° 1	5 min
	Alcohol 96° 2	5 min
	Alcohol 70°	3 min
	Alcohol 50° 1	3 min
Lavado	Agua destilada 1	5 min
	Agua destilada 2	5 min
Fijador	Solución de Bouin a 50°C	1 hora
Coloración	Hematoxilina de hierro de Wigert	10 min
Viraje	Agua corriente tibia	10 min
Enjuague	Agua destilada	5 inmersiones
Coloración	Fucsina ácida - escarlata de Biebrich	15 min
Lavado	Agua destilada	5 min
Diferenciar	Ácido fosfotúngstico	10 min
Lavado	Agua destilada	Enjuague
Coloración	Verde luz	1 min
Enjuagar	Agua destilada	Enjuague
Deshidratado rápido	Alcohol 100° 1	5 min
	Alcohol 100° 2	5 min
Aclarado	New clear 1	5 min
	New clear 2	5 min
Montaje	con new mount	

3.3.5.3 Ácido Peryódico de Schiff (PAS) - Azul Alcian (AA)

La utilización de esta técnica permite la detección en los tejidos de polisacáridos como glucógeno y glicosaminoglicanos, como así también de glicoconjugados como glicoproteínas. La combinación de la técnica del ácido periódico de Schiff y el azul alcian permite distinguir glicosaminoglicanos ácidos, como el ácido hialurónico, que se tiñen de azul, de los otros glicosaminoglicanos (polisacáridos y mucinas neutras conteniendo hexosas y desohihexosas con grupos glicol vecinos) que se tiñen con el PAS de color púrpura a rojo (Cuadro 6). Para el desarrollo de esta técnica se utilizaron láminas con tejidos de 5 micrómetros de espesor y se siguió el procedimiento establecido por Lev y Spicer, 1964 y desarrollado por AFIP, 1995. Esta técnica fue utilizada para la identificación de glicoconjugados así como para la identificación de CCAL.

Cuadro 6: Protocolo de tinción de muestras de intestino de alpacas con Ácido Peryódico de Schiff - Azul Alcian (PAS-AA).

Proceso	Solución	Tiempo
Desparafinado	New clear 1	10 min
	New clear 2	10 min
Desengrasado	Alcohol 100° 1	10 min
	Alcohol 100° 2	5 min
Hidratación	Alcohol 96° 1	5 min
	Alcohol 96° 2	5 min
	Alcohol 70°	3 min
	Alcohol 50° 1	3 min
Lavado	Agua destilada 1	5 min
	Agua destilada 2	5 min
Coloración	Azul Alcián pH 2.5	30 min
Lavado	Agua corriente	5 min
	Agua destilada	Enjuague
Diferenciar	Ácido peryódico	10 min
Lavado	Agua corriente	3 min
	Agua destilada	Enjuague
Colorear	Reactivo de Schiff	15 min
Viraje	Agua corriente tibia	10 min
Lavado	Agua destilada	Enjuagar
Colorear	Hematoxilina de Harris	20 s
Viraje	Agua corriente	3 min
Lavado	Agua destilada	2 min
Deshidratación	Alcohol 96° 1	3 min
	Alcohol 96° 2	5 min
	Alcohol 100° 1	5 min
	Alcohol 100° 2	5 min
Aclarado	New clear 1	5 min
	New clear 2	5 min
Montaje	New mount	

3.3.5.4 Floxina Tartrazina

Esta es una técnica que permite visualizar específicamente los gránulos de células de Paneth, los cuales se observan de color rojo intenso. Para esta técnica se utilizaron cortes de 5 µm de espesor y se siguió el protocolo descrito por Lev y Spicer, 1964 y desarrollado por AFIP, 1995 (Cuadro 7).

Cuadro 7: Protocolo para procesamiento de muestras de intestino de alpacas mediante la coloración Floxina Tartrazina.

Proceso	Solución	Tiempo
Desparafinado	New clear 1	10 min
	New clear 2	10 min
	Etanol 100° 1	10 min
	Etanol 100° 2	10 min
Hidratación	Etanol 96° 1	5 min
	Etanol 96° 2	5 min
	Etanol 70°	3 min
	Etanol 50°	3 min
	Agua destilada	3 min
Coloración	Hematoxilina de Harris	1 minutos
	Agua destilada	3 min
	Agua destilada	3 min
	Agua destilada	3 min
	Solución A	30 min
	Agua destilada	3 min
	Agua destilada	3 min
	Agua destilada	3 min
	Escurrir las láminas	
	Solución B	Hasta que las inclusiones tiñan de rojo
Deshidratado	Etanol 70°	5 min
	Etanol 96° 1	5 min
	Etanol 96° 2	5 min
	Etanol 100° 1	5 min
	Etanol 100° 2	5 min
Aclarado	New clear 1	10 min
	New clear 2	10 min
Montaje	Con New Mount	

Núcleos: azules, gránulos: rojos, resto de tejidos: amarillos
Solución A: 0.5 gr de Floxina B, 0.5 g de Cloruro de calcio, enrasar en 1000 mL de agua destilada
Solución B: 100 mL de 2-Ethoxy etanol, tartrazina hasta saturar la solución

3.3.6. Técnica de Lectinhistoquímica (LHQ)

La LHQ es una técnica de brinda un sistema de detección altamente sensible a los cambios en glicosilación y expresión de carbohidratos que ocurren durante el desarrollo, crecimiento o enfermedad. Las lectinas son proteínas de origen no inmune que reconocen de manera específica carbohidratos presentes en la membrana celular o en el citoplasma, aglutinan células y precipitan conjugados. Las lectinas presentan como mínimo dos sitios de reconocimiento de carbohidratos, lo cual les da la capacidad para aglutinar células (Hernández *et al.*, 2005). Son utilizadas para estudios de la estructura de las membranas celulares, estudios citogenéticos, de células malignas

y enzimáticos, purificación de glicoconjugados, y tipificación de grupos sanguíneos (Hernández *et al.*, 1999).

La técnica de lectinhistoquímica ha sido empleada en diferentes tejidos animales de varias especies, en condiciones normales o de enfermedad (Galotta, 2006; Takeuchi *et al*, 2007). Sirve para evaluar cambios en la glicosilación de los tejidos producto de enfermedades (Massone *et al*, 1991; Piñols, 1999; Sohn y Chae, 2000; Choi *et al*, 2003; Zanuzzi, 2010), modificaciones en la dieta (Sharma *et al.*, 1995; Schauer, 1997) o cambios en la microbiota (Chae y Lee, 1995).

Esta técnica se basa en la unión de las lectinas a cadenas de glúcidos terminales específicos que se encuentran libres o formando parte de glicoproteínas ubicadas en la membrana celular, en las estructuras citoplasmáticas y nucleares y en la matriz extracelular de las células y tejidos (Stoddart y Jones, 1998). Se utiliza una lectina marcada con biotina, para luego hacer la amplificación con streptavidina-biotina conjugada con peroxidasa para la detección, luego de lo cual se usa el cromógeno 3´3 diaminobencidina, el cual precipita la peroxidasa presente en el conjugado lectina-avidina-biotina dando color a la reacción.

Para el desarrollo de esta técnica se utilizaron 14 lectinas biotiniladas del Kit I y Kit II de la marca Vector (Vector Laboratories, USA) (Cuadro 8). La preparación de las lectinas para el proceso se realizó diluyéndolas en albúmina sérica bovina (BSA) al 0.1%. De esta solución madre se prepara la solución de trabajo para lo cual se utiliza en el caso de la lectina PNA 2.5 µl de solución madre en 500 µl de PBS; para el resto de las lectinas se utiliza 7.5 µl de solución madre en 500 µl de PBS; siendo esta solución la que se utiliza para incubar las láminas. El procedimiento de la técnica de lectinhistoquímica empleada para intestino se describe en el Cuadro 9 (Zanuzzi *et al.,* 2010; Galotta *et al.,* 2011). Como control positivo se utilizaron cortes de yeyuno y colon de ratón y como control negativo se utilizaron cortes de intestino de alpaca, en las cuales se reemplazó la lectina por BSA al 0.1%. Adicionalmente, al realizar la lectura de la lámina se verificó que los eritrocitos no presenten coloración marrón, lo cual fue el control negativo interno.

Cuadro 8: Propiedades de lectinas (Vector Laboratories).

Lectina	Nombre	Afinidad
RCA-1	*Ricinus communis I*	Gal
DBA	*Dolichos biflorus*	α GalNAc
GSL-1	*Griffonia (Bandeiraea) simplicifolia I*	αGal,α GalNAc
SBA	*Soybean*	α>βGalNAc
SJA	*Sophora japónica*	βGalNAc
PNA	*Peanuts*	Galβ3GalNAc
WGA	*Wheat gearm*	GlcNAc
SWGA	*Succinylated wheat germ*	GlcNAc
UEA-1	*Ulex europaeus I*	αFuc
Con A	*Concanavalin A*	αMan,αGlc
LCA	*Lens culinaris*	αMan,αGlc
PSA	*Pisum sativum*	αMan,αGlc
PHA-L	Phaseolus vulgaris *Leucoagglutinin*	estructuras complejas
PHA-E	*Phaseolus vulgaris Erythroagglutinin*	estructuras complejas

Gal: D-Galactosa; GalNAc: N-Acetilgalactosamina; GlcNAc: N-Acetilglucosamina; Fuc: L-fucosa; Man: manosa; Glc: D-glucosa

3.3.7 Técnica de Inmunohistoquímica (IHQ)

La técnica de inmunohistoquímica es una técnica que permite detectar, amplificar y visibilizar in situ un antígeno específico, que generalmente es una proteína, la cual se encuentra a nivel tisular o celular, mediante el uso de anticuerpos específicos y el empleo de sistemas de detección enzimáticos (García-Caballero *et al*., 2014; Segovia *et al*., 2016). Para el desarrollo de esta técnica se prepararon cortes de 5 µm de espesor que fueron colocados en láminas portaobjetos previamente embebidas con Poly-L-Lysina (P 8920, Sigma-Aldrich, USA); y luego dependiendo del anticuerpo a usarse se desarrollaron 2 métodos; el método ABC descrito en el Cuadro 10 y el método de Streptavidina-Biotina Peroxidasa descrito en el Cuadro 11.

Cuadro 9: Protocolo para procesamiento de muestras de intestino de alpacas mediante la técnica de lectinhistoquímica (LHQ).

Proceso	Solución	Tiempo
Desparafinado	New clear 1	12 min
	New clear 2	12 min
	Etanol 100° 1	10 min
	Etanol 100° 2	10 min
Bloqueo de peroxidasa endógena	Peróxido de hidrógeno al 3% en etanol 100°	30 min
Hidratación	Etanol 96° 1	3 min
	Etanol 96° 2	3 min
	Etanol 70°	3 min
	Etanol 50°	3 min
	PBS 1	5 min
	PBS 2	5 min
Recuperación Antigénica	Buffer citrato	10 min a 700 Watts (microondas)
	Enfriar	30 min
	PBS 1	5 min
	PBS 2	5 min
Inactivación de uniones específicas	BSA 1%	30 min temperatura Amb en cámara húmeda
Incubación en lectina	Lectina (dilución según protocolo)	18 horas a 4°C en cámara húmeda
	PBS 1	5 min
	PBS 2	5 min
	PBS 3	5 min
	Streptavidina	30 min, cámara húmeda, Temperatura ambiente
	PBS 1	5 min
	PBS 2	5 min
	PBS 3	5 min
Revelado	Diaminobenzidina 3'3	Tiempo controlado
	Agua corriente	Lavado
	Agua destilada	2 min
Coloración de contraste	Hematoxilina de Harris	15 s
	Agua corriente	Lavado
	Agua corriente	5 min
	Agua destilada	2 min
Deshidratado	Etanol 70°	5 min
	Etanol 96° 1	5 min
	Etanol 96° 2	5 min
	Etanol 100° 1	5 min
	Etanol 100° 2	5 min
Aclarado	New clear 1	10 min
	New clear 2	10 min
Montaje	con New mount	

CH: cámara húmeda

Cuadro 10: Protocolo para procesamiento de muestras de intestino de alpaca mediante la técnica de Inmunohistoquímica (IHQ) por el método ABC.

Proceso	Solución	Tiempo
Desparafinado	New clear 1	12 min
	New clear 2	12 min
	Etanol 100° 1	10 min
	Etanol 100° 2	10 min
Bloqueo de peroxidasa endógena	Peróxido de hidrógeno al 3% en metanol 100°	30 min
Hidratación	Etanol 96° 1	3 min
	Etanol 96° 2	3 min
	Etanol 70°	3 min
	Etanol 50°	3 min
	PBS 1	5 min
	PBS 2	5 min
Recuperación Antigénica	Buffer citrato	10 min a 700 watts (microondas)
	Enfriar	30 min
	PBS 1	5 min
	PBS 2	5 min
Inactivación de uniones específicas	BSA 1%	30 min, CH, T° Amb
Incubación anticuerpo primario	Anticuerpo primario	18 horas a 4°C en CH
	PBS 1	5 min
	PBS 2	5 min
	PBS 3	5 min
Anticuerpo Secundario	Anticuerpo secundario	30 min, CH, T° Amb
	PBS 1	5 min
	PBS 2	5 min
	PBS 3	5 min
	Enzima AB	30 min, CH, T° Amb
	PBS 1	5 min
	PBS 2	5 min
	PBS 3	5 min
Revelado	Diaminobencidina 3'3	Tiempo controlado
	Agua corriente	Lavado
	Agua destilada	2 min
Coloración de contraste	Hematoxilina de Harris	15 s
	Agua corriente	Lavado
	Agua corriente	5 min
	Agua destilada	2 min
Deshidratado	Etanol 70°	5 min
	Etanol 96° 1	5 min
	Etanol 96° 2	5 min
	Etanol 100° 1	5 min
	Etanol 100° 2	5 min
Aclarado	New clear 1	10 min
	New clear 2	10 min
Montaje	con New mount	

T° Amb: temperatura ambiente, CH: cámara húmeda

Cuadro 11: Protocolo para el procesamiento de muestras de intestino de alpacas mediante la técnica de Inmunohistoquímica (IHQ), método Streptavidina-Biotina Peroxidasa.

Proceso	Solución	Tiempo
Desparafinado	Xilol 1	12 min
	Xilol 2	12 min
	Etanol 100° 1	10 min
	Etanol 100° 2	10 min
Bloqueo de peroxidasa endógena	Peróxido de Hidrógeno al 3% en etanol 100°	30 min
Hidratación	Etanol 96° 1	3 min
	Etanol 96° 2	3 min
	Etanol 70°	3 min
	Etanol 50°	3 min
	PBS 1	5 min
	PBS 2	5 min
Recuperación Antigénica	Buffer citrato	10 min a 700 Watts (microondas)
	Enfriar	30 min
	PBS 1	5 min
	PBS 2	5 min
Inactivación de uniones específicas	BSA 1%	30 min T° Amb, CH
Anticuerpo Primario	Anticuerpo primario	18 horas a 4°C, CH
	PBS 1	5 min
	PBS 2	5 min
	PBS 3	5 min
	Streptavidina	30 min, cámara húmeda, T° ambiente
	PBS 1	5 min
	PBS 2	5 min
	PBS 3	5 min
Revelado	Diaminobencidina 3'3	Tiempo controlado
	Agua corriente	Lavado
	Agua destilada	2 min
Coloración de contraste	Hematoxilina de Harris	15 s
	Agua corriente	Lavado
	Agua corriente	5 min
	Agua destilada	2 min
Deshidratado	Etanol 70°	5 min
	Etanol 96° 1	5 min
	Etanol 96° 2	5 min
	Etanol 100° 1	5 min
	Etanol 100° 2	5 min
Aclarado	Xilol 1	10 min
	Xilol 2	10 min
Montaje	con Permount	

T° Amb: temperatura ambiente, CH: cámara húmeda

IV. CAPÍTULO I: ESTUDIO MORFOLÓGICO Y MORFOMÉTRICO DEL EPITELIO INTESTINAL A LO LARGO DE LA ONTOGENIA

4.1 OBJETIVO

Determinar los cambios morfológicos y morfométricos del epitelio intestinal en alpacas en diferentes etapas de desarrollo.

4.2 METODOLOGÍA

Para cumplir con el objetivo, el estudio se dividió en tres partes: 1) evaluación del pH de la mucosa intestinal, 2) estudio del desarrollo morfológico y 3) estudio de los cambios morfométricos del epitelio intestinal.

4.2.1 Evaluación del pH de la mucosa intestinal

La determinación del pH de la mucosa intestinal se realizó en crías y en adultos, tomándose los valores de los recién nacidos como punto de inicio, ya que estos animales no consumieron calostro. La determinación del pH intestinal se realizó porque este es uno de los factores que influye en los procesos de diferenciación y maduración del epitelio intestinal, así como variaciones en el pH intestinal induce a cambios en el medio ambiente intestinal.

Después de la apertura de la cavidad abdominal e identificación de las diferentes porciones intestinales (duodeno, yeyuno, íleon, ciego, colon ascendente, colon transverso, colon descendente). En cada porción se realizó un corte longitudinal de la pared exponiendo la mucosa, se retiró el material presente en el lumen intestinal con pinzas y se procedió a realizar la determinación del pH de la mucosa de forma directa con un electrodo de membrana plana del potenciómetro modelo 826 mobile de la marca Methrom (Suiza). El equipo fue calibrado con anterioridad con soluciones estándares de la marca. Para la determinación del pH de la mucosa, en cada porción se utilizó diferente material de disección, evitando de esta manera valores de pH

erróneo debido a contenido intestinal procedentes de otras porciones. La determinación del pH se realizó en 3 puntos diferentes de cada porción intestinal. El análisis de los resultados se realizó por comparación de medias, análisis de varianza de una sola vía con un grado de significancia $p<0.05$; los resultados se expresaron en tablas indicando la media ± desvío estándar**.**

4.2.2. Estudio del desarrollo morfológico

La descripción morfológica de las diferentes porciones intestinales en las etapas fetales, crías y adultos, se realizó en láminas coloreadas con Hematoxilina-Eosina (Cuadro 4). Se utilizaron láminas coloreadas con Tricrómico de Masson (Cuadro 5) y ácido periódico-reactivo de Schiff (PAS) - Azul Alcian (AA) (Cuadro 6) para identificar estructuras específicas de la pared intestinal. En cada porción intestinal se describieron las diferentes túnicas de la pared intestinal: serosa, muscular, submucosa y mucosa, describiendo en la mucosa el tipo de epitelio, las poblaciones celulares, y la estructura de vellosidades y criptas (Iji *et al*., 2001; Buhay, 2006; Forder, 2007; Zanuzzi, 2010).

La lectura de las láminas se realizó con un microscopio Leica DM 4B (Leica, Alemania) con oculares HC Plan S de gran campo 10x/22 M, objetivos N Plan 5x/0.12, N Plan 10x/0.25 PH1, HC PL Fluotar 40x/0.80 PH2, N Plan 63x/0.80 y HC PL APO 100x/1.40 PH3. Para la captación de imágenes se utilizó la cámara digital de alta definición ICC50 W (Leica, Alemania) y se utilizó un Ipad Modelo MP2G2CL/A (Apple, EE.UU.) en donde se instaló la aplicación Leica Airlab (Leica, Alemania).

4.2.3. Estudio de los cambios morfométricos del epitelio intestinal

Se utilizaron láminas de las diferentes porciones intestinales, coloreadas con H-E (Cuadro 3). La lectura de las láminas se realizó con un microscopio Leica DM 4B (Leica, Alemania) con oculares HC Plan S de gran campo 10x/22 M, objetivos N PLAN 5x/0.12, N PLAN 10x/0.25 PH1 y HC PL Fluotar 40x/0.80 PH2. Las imágenes fueron captadas con la cámara DFC7000 T (Leica, Alemania), almacenadas y procesadas mediante el programa LAS V4.12 (Leica, Alemania) instalado en una computadora portátil Intel core i7 de 7ma generación (Inspiron 14 7000, marca Dell); las imágenes se tomaron en formato TIFF (Portiansky *et al*., 2005).

En cada muestra se determinaron las siguientes variables:

- **Espesor de la pared intestinal**: para la determinación del espesor de la pared intestinal, se midió la distancia entre la punta de la vellosidad y la serosa. En cada muestra se determinaron 15 medidas, las cuales fueron expresadas en micrómetros (µm).

- **Espesor de la mucosa intestinal**: el grosor de la mucosa intestinal se determinó midiendo desde la punta de la vellosidad hasta la muscular de la mucosa. Se tomaron 15 mediciones, las cuales fueron expresadas en micrómetros (µm).

- **Número de vellosidades x mm de longitud**: se contó el número de vellosidades existentes en 1 mm de longitud de mucosa; se realizaron 10 mediciones por cada porción intestinal de cada animal.

- **Número de criptas de Lieberkühn x mm de longitud**: se contó el número de criptas que descansan verticalmente sobre la muscular de la mucosa en 1 mm de longitud, se realizaron 10 mediciones por cada porción intestinal de cada animal.

- **Longitud de vellosidad intestinal**: Se evaluaron 25 ejes criptas-vellosidades completos cuya cripta alcanza la muscular de la mucosa, de cada muestra por porción intestinal de cada animal. Para la determinación de la longitud de la vellosidad se midió la distancia entre la punta de la vellosidad y el inicio de la cripta. Las medidas se expresaron en micrómetros (µm).

- **Ancho de vellosidad intestinal**: A las vellosidades previamente analizadas, se les midió el ancho en tres zonas (zona apical, zona media y zona basal), para luego obtener el promedio de las 3 que fue considerado como ancho de la vellosidad. Las mediciones se expresaron en micrómetros (µm).

- **Longitud de cripta de Lieberkühn**: Se evaluaron las 25 criptas de los ejes cripta vellosidad antes evaluados, en ellos se determinó la longitud de la cripta para lo cual se midió la distancia desde el inicio de la cripta hasta la base de la cripta. Las mediciones se expresaron en micrómetros (µm).

- **Ancho de cripta de Lieberkühn:** Se evaluaron las criptas antes estudiadas, para determinar el ancho de la cripta se realizaron mediciones en 3 zonas de la cripta (zona apical, zona media y zona basal), que se promediaron para obtener el valor considerado como ancho de la cripta. Los resultados se expresaron en micrómetros (µm).

Los resultados obtenidos fueron analizados por comparación de medias con análisis de varianza de una vía y fueron puestos en cuadros expresados en valores de media ± desvío estándar.

4.3. RESULTADOS

4.3.1. pH Intestinal

Los valores del pH de la mucosa intestinal fueron constantes en cada porción y en los diferentes grupos etarios; sin embargo, al comparar las porciones del intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon) a las del intestino grueso, estas presentan una ligera acidez, que va desde 6.24 ± 0.30 a 6.91 ± 0.33, comparado al intestino grueso (ciego, colon) donde hubo tendencia a la neutralidad-alcalinidad con valores que van desde 6.43±0.14 a 7.48±0.01.

En intestino delgado los valores de pH más bajos se observaron en duodeno, mientras que en íleon se observaron los más elevados; principalmente en las primeras edades hasta los 21 días de edad, luego sufrió un ligero descenso. En intestino grueso los valores más altos se observaron en colon transverso y colon descendente, siendo estos valores superiores a 7 al momento del nacimiento y en crías de 16 a 45 días. Tanto en íleon como en todo el intestino grueso se observaron los valores de pH más altos en crías recién nacidas, mientras que los valores más bajos se observaron en todas las porciones intestinales de animales adultos (Cuadro 12).

Cuadro 12: pH de la mucosa intestinal de alpacas.

Edad, días	Porción intestinal						
	Duodeno	**Yeyuno**	**Íleon**	**Ciego**	**Colon Ascendente**	**Colon Transverso**	**Colon Descendente**
	X ± DS	**X±DS**	**X±DS**	**X±DS**	**X±DS**	**X±DS**	**X±DS**
Recién nacido	6.37±0.01^{a,1}	6.63±0.04^{a,c,1}	7.31±0.01^{b,1}	7.08±0.04^{b,c,1,2}	6.90±0.01^{b,c,1}	7.25±0.01^{b,1}	7.11±0.01^{b,1}
1-7	6.49±0.22^{a,1}	6.67±0.15^{a,b,1}	7.11±0.29^{b1,2,3}	6.51±0.2^{a,1}	6.62±0.28^{a,1}	6.86±0.42^{a,b,1,2}	6.77±0.25^{a,b,1,2}
8-15	6.29±0.27^{a,1}	6.47±0.26^{a,1,2}	7.03±0.24^{a1,2,3}	6.55±0.66^{a,1,2}	6.94±0.26^{a,1}	6.96±0.44^{a,1,2}	6.90±0.20^{a,1,2}
16-21	6.50±0.37^{a,1}	6.60±0.20^{a,1}	6.76±0.25^{a2,3,4}	6.77±0.38^{a1,2}	6.97±0.42^{a,1}	7.11±018^{a,1}	6.80±0.39^{a,1,2}
22-27	6.34±0.14^{a,1}	6.64±0.14^{b,1}	7.20±0.14^{c1,2}	7.11±0.01^{c,d,1,2}	6.91±0.01^{d,1}	7.48±0.01^{e,1}	7.17±0.01^{c,1}
28-36	6.18±0.19^{a,1}	6.67±0.09^{b,1}	6.86±0.22^{b,c1,2,3,4}	7.16±0.08^{c,2}	6.99±0.28^{b,c,1}	7.12±0.19^{c,1}	7.13±0.14^{c,1}
37-45	6.42±0.12^{a,1}	6.74±0.24^{b,1}	6.67±0.19^{a,b,3,4}	6.87±0.12^{b,c,1,2}	6.77±0.27^{b,1}	7.13±0.07^{c,1}	7.10±0.14^{c,1}
Adultos	5.68±0.14^{a,2}	6.16±0.14^{b,2}	6.40±0.11^{c,4}	6.58±0.09^{c,1,2}	6.47±0.07^{c,1}	6.43±0.14^{c,2}	6.48±0.05^{c,2}

X: media, DS: desvío estándar

^{a,b,c,d,e}: diferencias entre columnas (porciones intestinales), $p<0.05$

^{1,2,3,4}: diferencias entre filas (edades), $p<0.05$

4.3.2. Morfología Intestinal

El desarrollo del tracto intestinal de la alpaca se observó desde el primer tercio de gestación, identificándose las diferentes porciones intestinales que caracterizan al adulto. El desarrollo del tracto digestivo de la alpaca sigue dos ejes independientes de desarrollo cráneo caudal, uno en el intestino delgado y otro en el intestino grueso.

El desarrollo del intestino delgado va de duodeno a íleon, el duodeno y el yeyuno se pueden diferenciar desde el día 46; mientras que el íleon, recién se observa hacia los 56 días de gestación. En el caso del intestino grueso su desarrollo va de colon ascendente a colon descendente. A los 46 días se observa una sola porción de intestino grueso, la cual es menos desarrollada que el intestino delgado. A los 56 días se observan el colon ascendente y el colon descendente mientras que el colon transverso se reconoce recién hacia los 80 días. El ciego se observa hacia los 56 días y sigue un patrón de desarrollo independiente.

4.3.2.1. Intestino Delgado

4.3.2.1.1 Duodeno

4.3.2.1.1.1 Periodo Fetal

Primer tercio: A los 46 días de gestación se puede observar que la diferenciación del epitelio sigue un patrón craneocaudal, se reconocen pequeñas evaginaciones con un eje mesenquimático en la región craneal. En este estadio, el epitelio duodenal es estratificado cilíndrico; se observan algunas células con citoplasma no teñido con H-E. No existe una separación entre la lámina propia y la submucosa, también se observa que la muscular propia ha comenzado a diferenciarse, y se pueden reconocer sus capas longitudinal externa y circular interna, también se observan algunas células nerviosas entre las dos capas musculares (Figura 2).

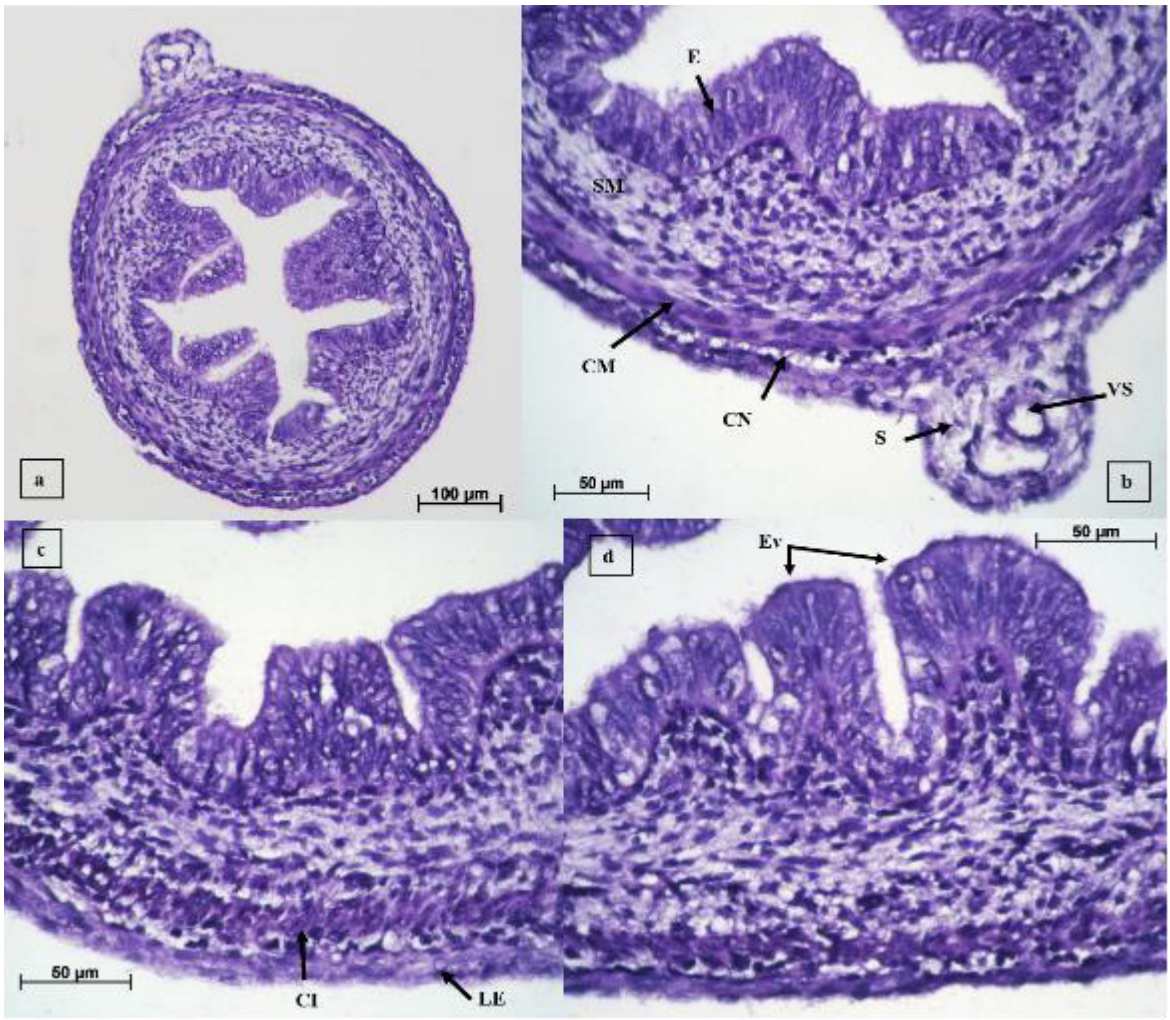


Figura 2: Duodeno de fetos de alpaca de 46 días de gestación. a) 10x, b), c), d) 40x. E: epitelio, SM: submucosa, CM: células musculares, CN: células nerviosas, S: serosa; VS: vaso sanguíneo, CI: circular interna, LE: longitudinal externa, Ev: evaginaciones. Coloración H-E.

A los 56 días, se puede observar en las evaginaciones, que el eje de tejido conectivo es más celular y la sustancia intercelular es más eosinófila, mientras que en el resto del órgano se mantiene el aspecto mesenquimático indiferenciado en este tejido. En el epitelio de las evaginaciones, el número de capas se reduce notablemente y en las zonas más apicales es de tipo simple (Figura 3a,). En la región más caudal aún no se observan evaginaciones (Figura 3b). En el epitelio aparecen algunas células pálidas que tienen un aspecto que recuerda al de las CCAL (Figura 3b, d). Al día 80 de gestación (Figura 4a, b) se puede observar evaginaciones en todo el duodeno.

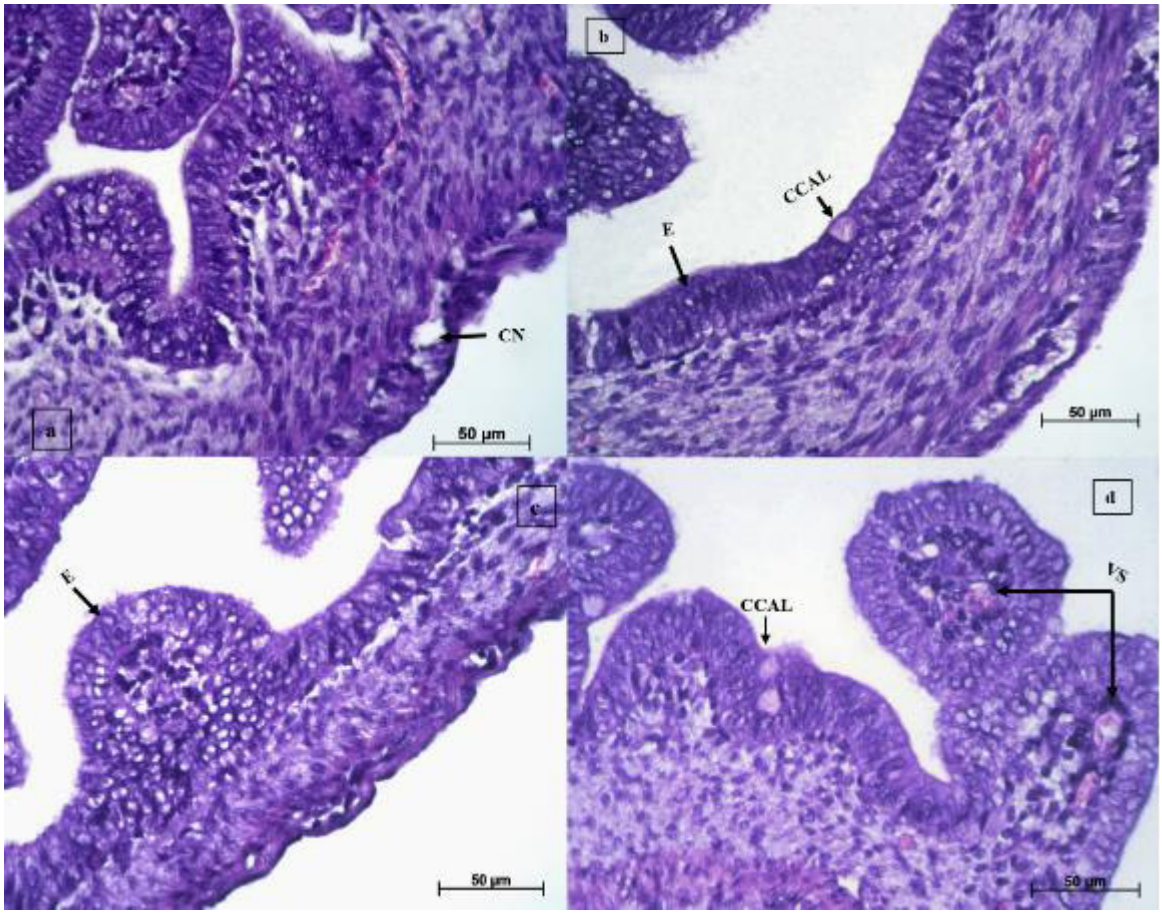


Figura 3: Duodeno de fetos de alpaca de 56 días de gestación. CN: células nerviosas, E: epitelio, CCAL: células caliciformes, VS: vasos sanguíneos. 40x. Coloración H-E.

A los 103 días se observaron pequeñas proyecciones de la mucosa en todo el duodeno, el epitelio es estratificado cilíndrico. Se pueden observar 3 tipos celulares: 1) células epiteliales cilíndricas con núcleo central y citoplasma coloreado y 2) células con citoplasma cromófobo de forma globosa con núcleo hacia la base de la célula y 3) célula con citoplasma cromófobo de tamaño pequeño y forma alargada, con núcleo central (Figura 4c, d).

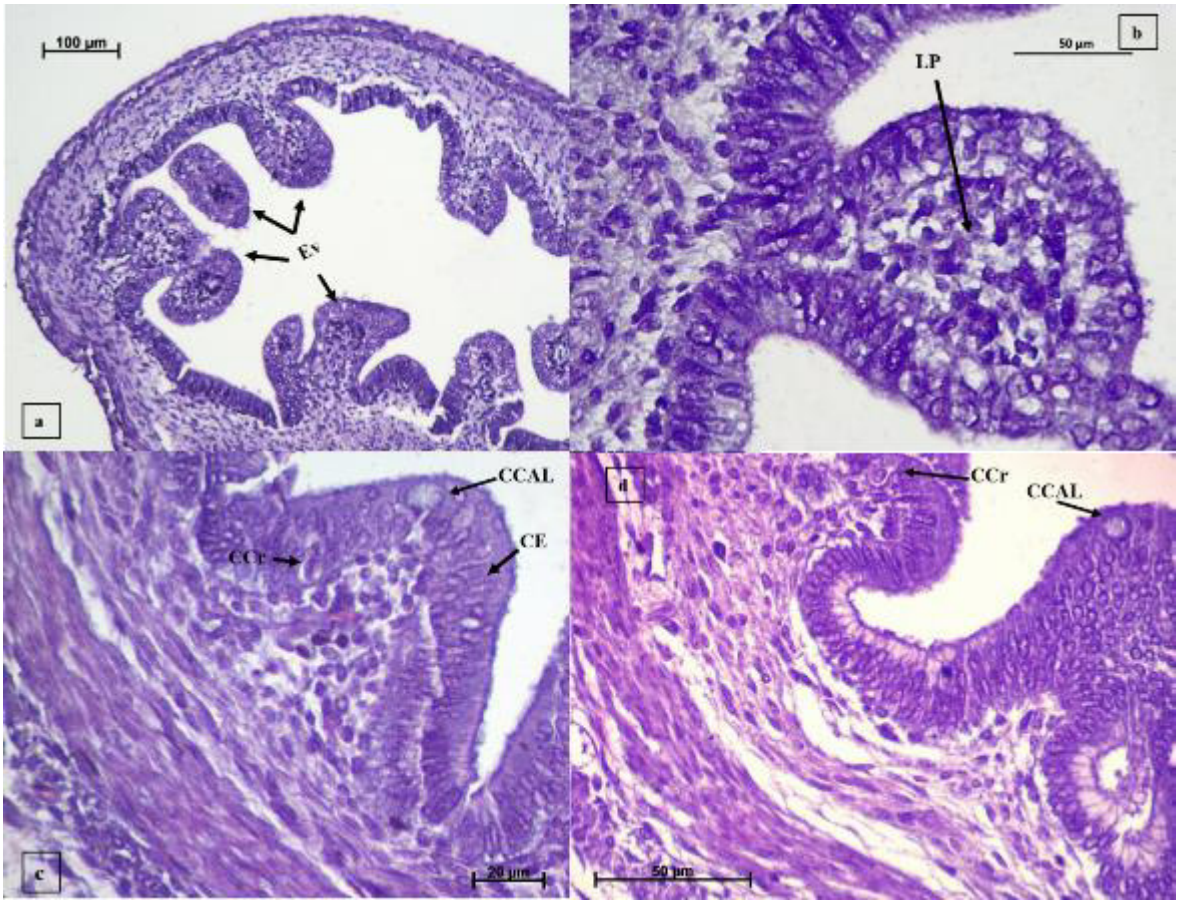


Figura 4: Duodeno de fetos de alpaca de primer tercio de gestación. a) 80 días; 10x. b) 80 días, 63x. c), d) 103 días, 40x. Ev: evaginaciones; LP: lámina propia, CE: células epiteliales, CCr: células cromófobas, CCAL: células caliciformes. Coloración H-E.

Segundo tercio: Entre los 117-119 días aparecen invaginaciones en la porción craneal. El epitelio es cilíndrico simple en casi todo el segmento, aunque en algunas zonas aún es estratificado. Algunas células poseen el aspecto típico de CCAL. Otras células presentan un citoplasma pálido pero mantienen la forma cilíndrica típica (Figura 5a, b).

Entre los 124 y 164 días, las características son similares, pero las invaginaciones se hacen más manifiestas. Se observa una condensación apical y ribete en cepillo en las células epiteliales que no tienen aspecto de CCAL. Las diferencias regionales no son tan evidentes como en edades previas (Figura 5c).

Entre los 207 y 221 días, el epitelio es cilíndrico simple en toda la extensión. Al final del periodo comienzan a observarse pliegues que incluyen mucosa y submucosa. Los enterocitos tienen un citoplasma pálido, especialmente en las invaginaciones (Figura 5d).

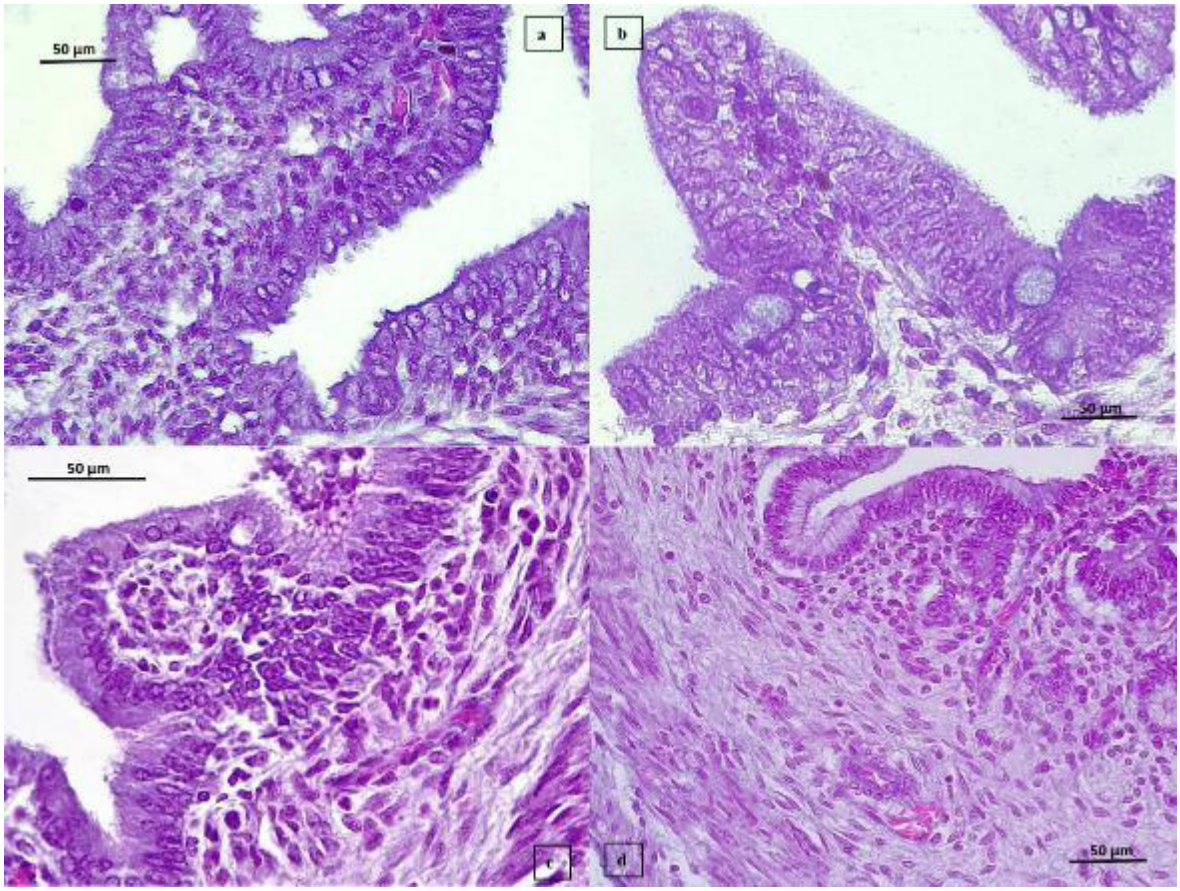


Figura 5: Duodeno de fetos de alpaca de segundo tercio de gestación. a), b) 119 días; 40x. c) 164 días, 63x. d) 207 días, 40x. Coloración H-E.

Tercer tercio: A los 230 días, las evaginaciones tienen una forma más digitiforme con el aspecto típico de vellosidades; en este momento se observan CP en las invaginaciones. A los 293 días se observan glándulas de Brünner con un predominio de células mucosas, aunque algunas son de aspecto seroso (Figura 6a, b). La muscular de la mucosa se va haciendo continua y en el eje de las vellosidades se forma el músculo de Brücke (Figura 6c, d). Las glándulas son más abundantes al final del periodo y los pliegues más evidentes.

Al final de la gestación, la mucosa está más organizada; el número de pliegues, criptas y vellosidades es mayor. Las criptas son más profundas, se pueden observar células en mitosis cerca de la base, CP bien diferenciadas en la base y algunas células de aspecto mucoso. En las vellosidades se observan CEE y linfocitos intraepiteliales (Figura 6e, f, g, h).

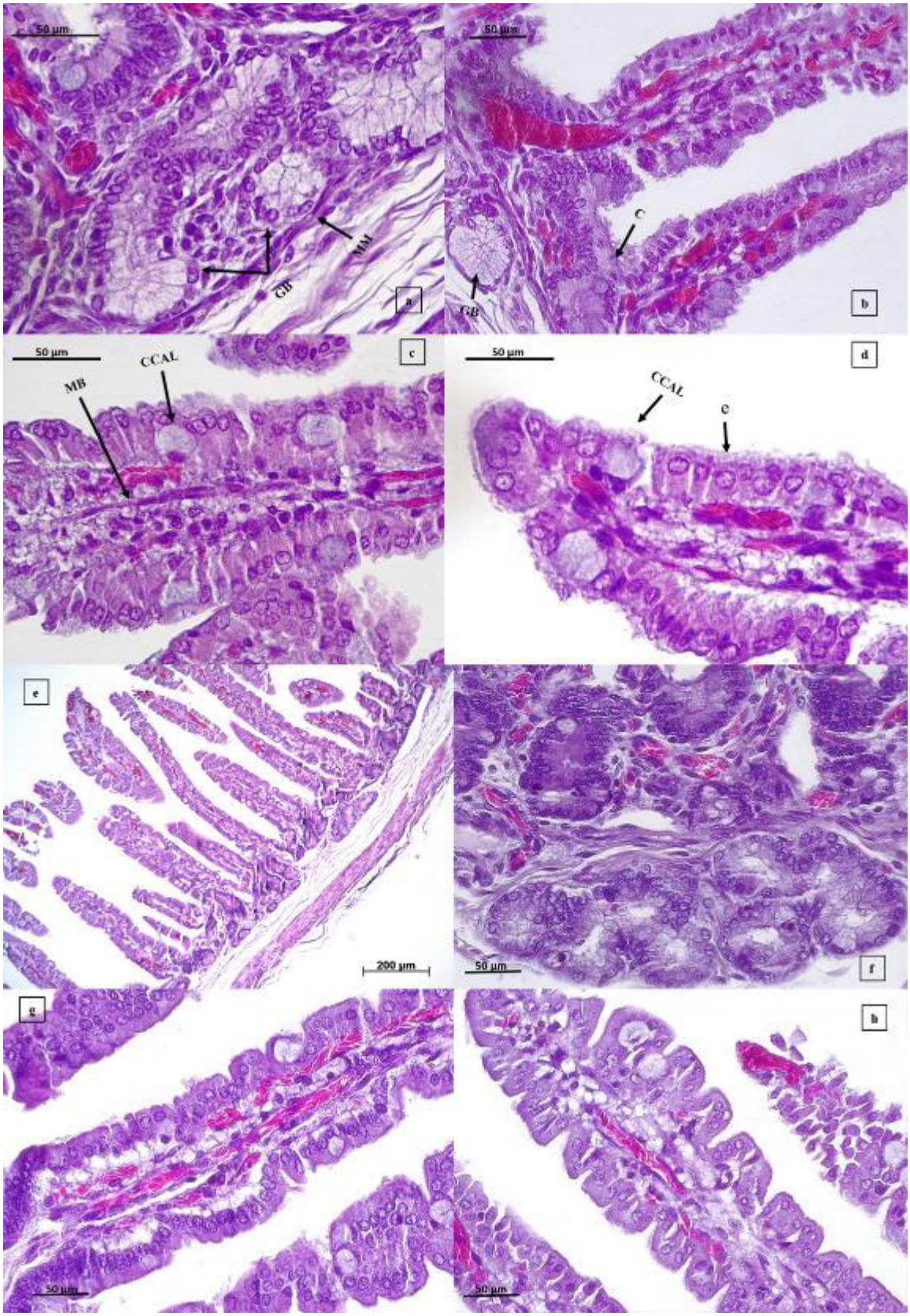


Figura 6: Duodeno de fetos de alpaca de tercer tercio de gestación. a), c), d) 293 días; 63x. b) 293 días, 40x. e) 317 días, 10x. f), g), h) 334 días, 40x. GB: glándulas de Brünner, MM: muscular de la mucosa, C: cripta, MB: músculo de Brücke, CCAL: caliciformes, e: enterocitos, 40x. Coloración H-E.

4.3.2.1.1.2 Periodo posnatal

En el neonato, las características morfológicas son muy similares a las descritas para el final de la gestación; aunque las vellosidades son más cortas y las criptas más profundas; el tejido conectivo de la submucosa es menos abundante y las glándulas de Brünner están formadas por completo por células mucosas y por lo tanto su luz es más amplia. En algunos sectores de la porción más caudal comienzan a desaparecer las glándulas de Brünner, que hasta este momento se extendían por todo el sector. Los enterocitos con un aspecto pálido característico de la etapa fetal se mantienen (Figura 7a, b, c, d). En las primeras 24 horas post nacimiento se observa abundante muerte celular con descamación que va de la punta a la base de la vellosidad (Figura 8a, b, c), proceso que va desapareciendo hacia el día 4 de edad (Figura 8d), y ya no se registra en el día 5 (Figura 8e). En los días posteriores el epitelio no presenta mayores cambios (Figura 8f, g). Durante la segunda semana hay un incremento de la infiltración celular (Figura 8h).

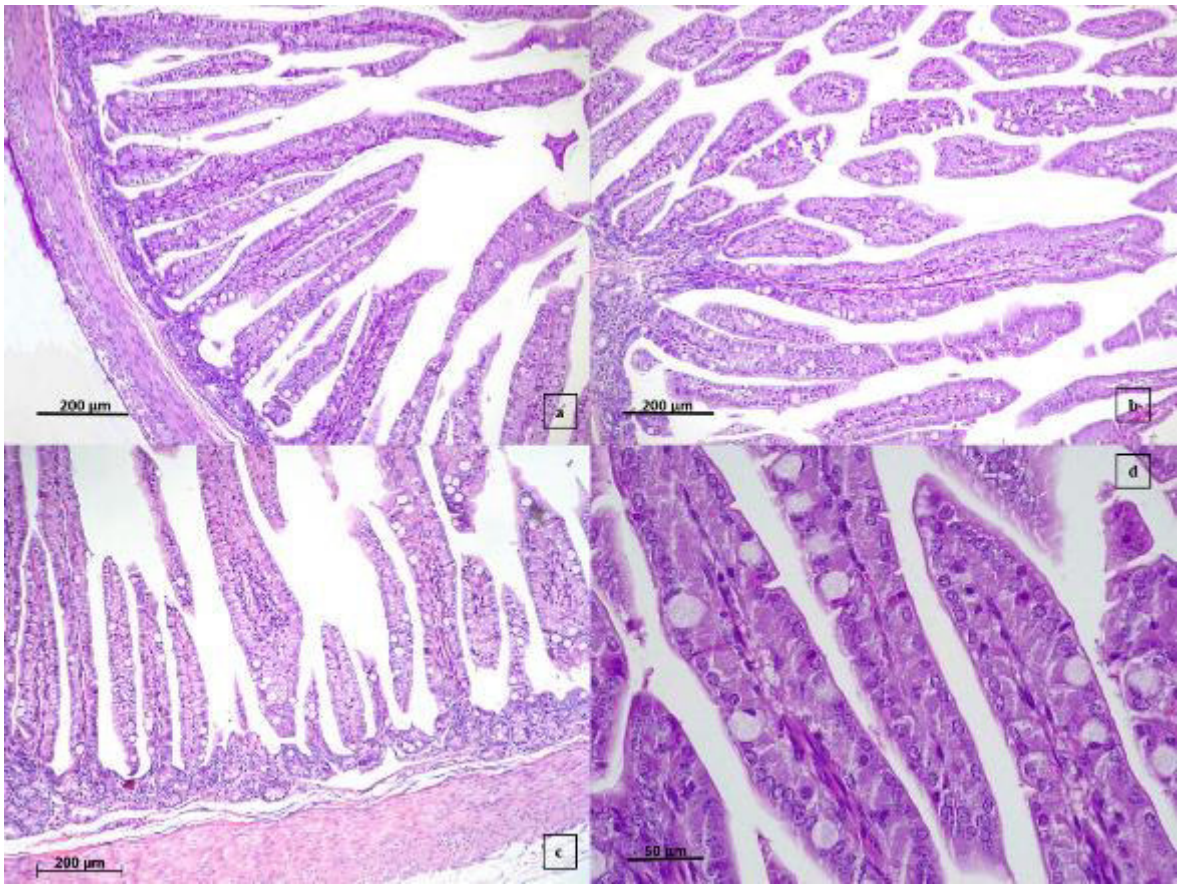


Figura 7: Duodeno de crías de alpaca recién nacidas. a), b) c) 10x d) 40x. Coloración H-E.

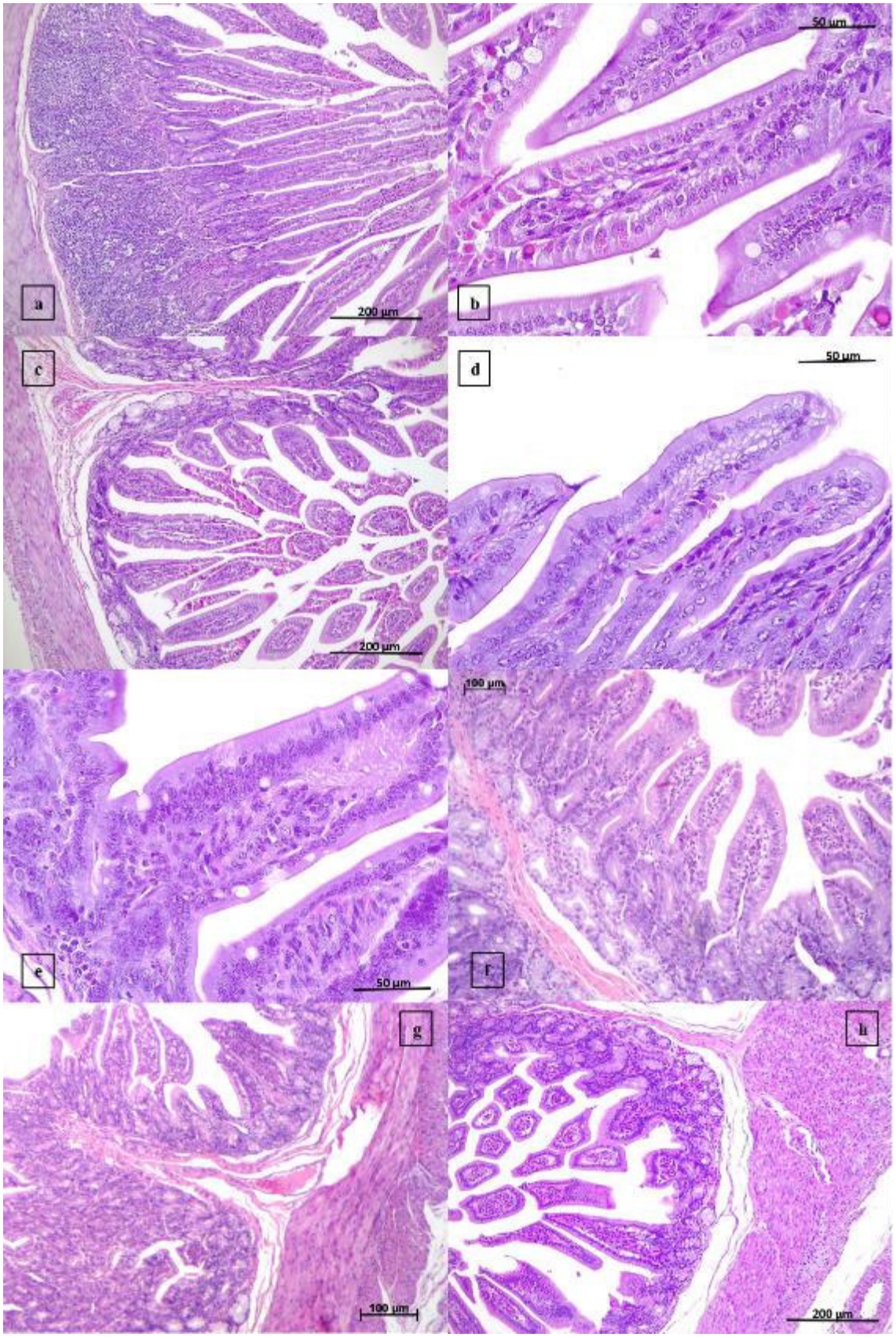


Figura 8: Duodeno de crías de alpacas. a), c) 1 día, 10x. b) 1 día, 40x. d) 4 días, 40x. e) 5 días, 40x. f), g) 7 días, 10x. h) 15 días, 10x. Coloración H-E.

Del día 16 al día 21 se incrementa el número de pliegues y al final de este se observan en la región caudal agregados linfoides de gran tamaño en la submucosa (Figura 9a). Desde esa edad y hasta la edad adulta, las características histológicas no se modifican con respecto a lo observado en los animales jóvenes (Figura 9b, c, d).

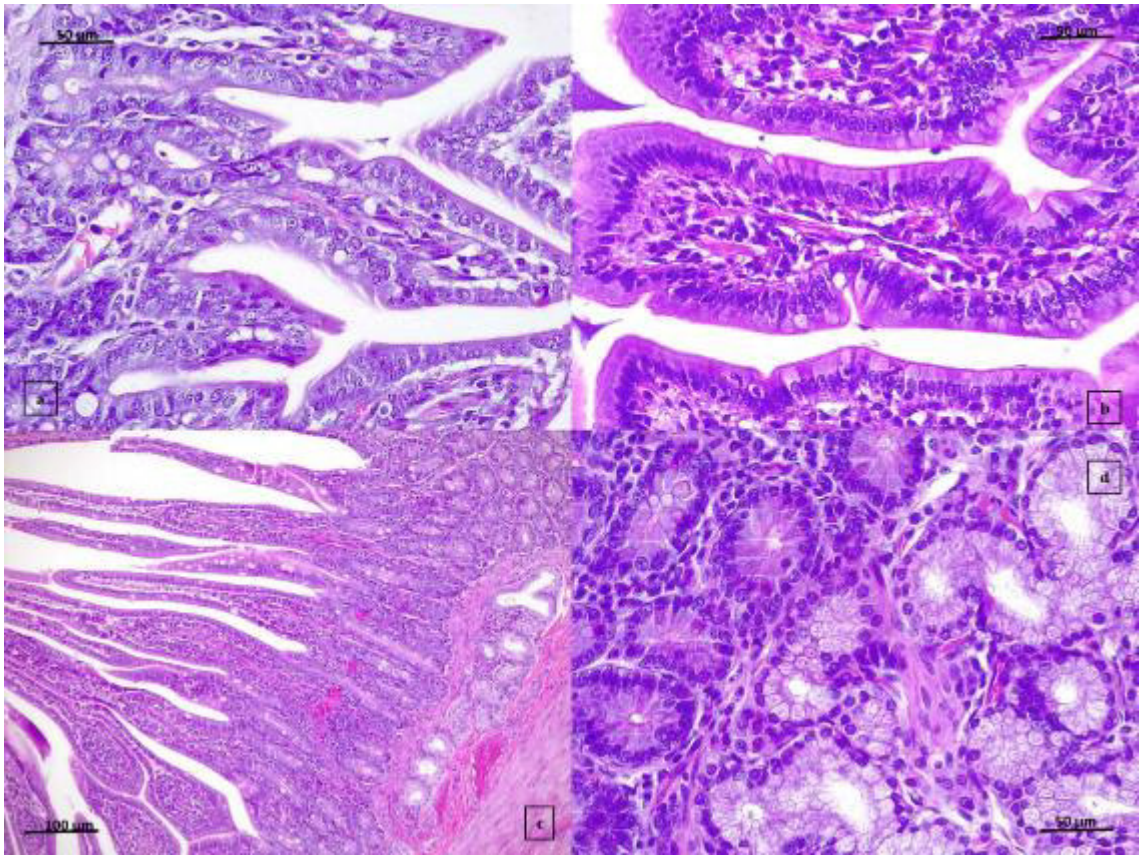


Figura 9: Duodeno de crías de alpacas. a) 18 días, 40x. b) 31 días, 40x. c) 45 días, 10x. d) 43 días, 40x. Coloración H-E

4.3.2.1.2 Yeyuno

4.3.2.1.2.1 Periodo fetal

Primer tercio: A los 46 días, la luz del órgano se observa bastante ocluida. Con respecto al proceso de diferenciación del epitelio intestinal, el yeyuno muestra un menor desarrollo en comparación con el duodeno, el epitelio es cilíndrico estratificado, con más capas que el del duodeno y con presencia de células de citoplasma no coloreado. Se observan pequeñas evaginaciones con un eje de tejido mesenquimático no diferenciado. La muscular propia se puede observar en proceso de diferenciación, sin ser muy clara la diferenciación entre las capas circular interna y longitudinal externa (Figura 10a).

Entre los días 56 y 80, se observan evaginaciones, que son más pequeñas hacia caudal. El epitelio es muy similar al observado en el periodo previo, aunque en algunas zonas el número de

capas se reduce (Figura 10b, c) En algunas regiones se observan diferencias entre la lámina propia y la submucosa e inclusive pueden reconocerse algunas fibras musculares correspondientes a la futura muscular de la mucosa. La muscular propia presenta las dos capas bien diferenciadas (Figura 10c, d).

A los 103 días las evaginaciones van tomando un aspecto digitiforme con epitelio cilíndrico simple o a lo sumo biestratificado con ribete en cepillo. La diferenciación de las distintas túnicas es mayor.

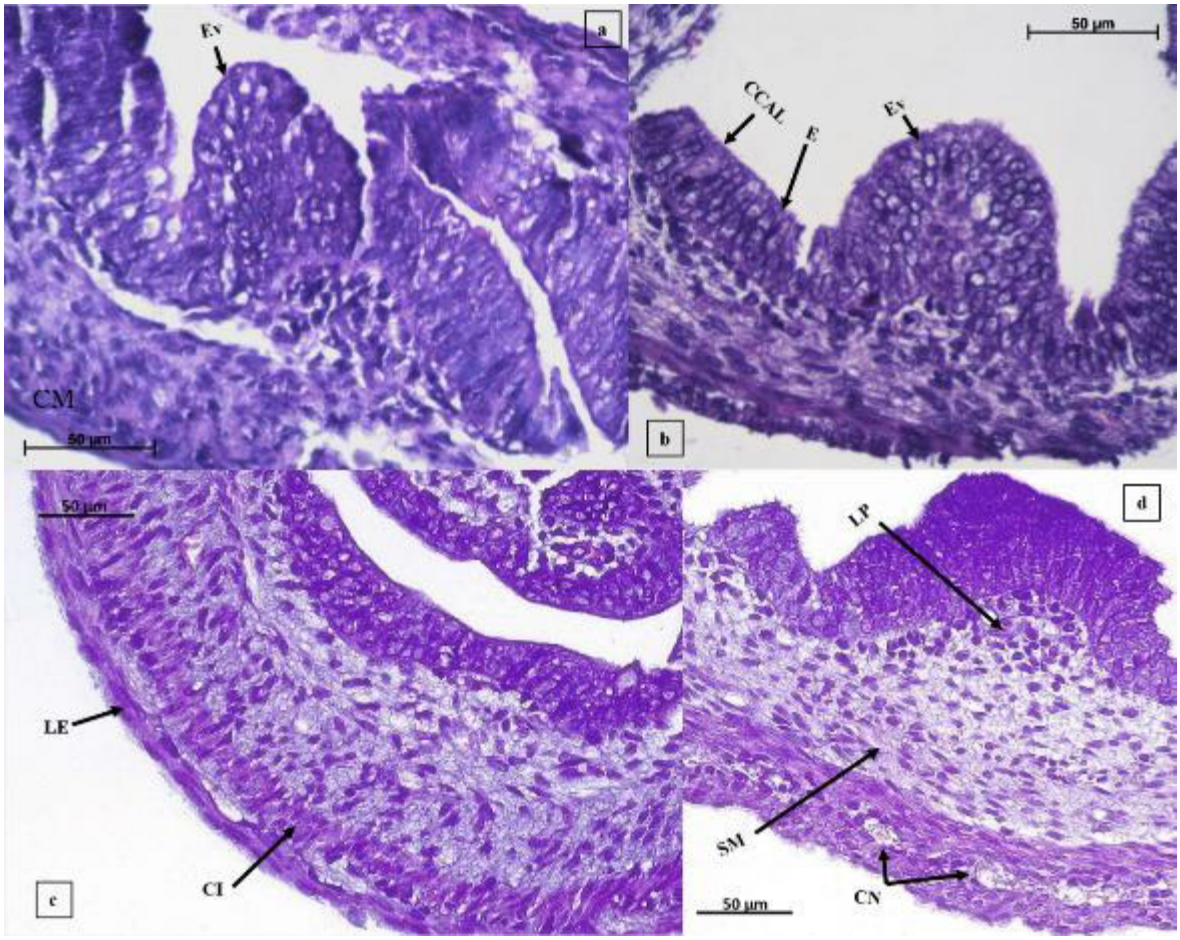


Figura 10: Yeyuno de fetos de alpaca de primer tercio de gestación. a) 46 días, b) 56 días, c), d) 80 días. Ev: evaginación, CM: células musculares, CCAL: células caliciformes, E: epitelio, LE: capa longitudinal externa, CI: capa circular interna, LP: lámina propia, SM: submucosa, CN: células nerviosas. 40x. Coloración H-E.

Segundo tercio: Al inicio del periodo las características son similares a las del final del segundo tercio de gestación. Entre los 119 y 145 días, las evaginaciones digitiformes ya poseen la forma típica de vellosidades, que están recubiertas por un epitelio cilíndrico simple, que hacia la base de las evaginaciones es cilíndrico estratificado (2 capas). Son evidentes las CCAL. La zona craneal siempre presenta un desarrollo más avanzado que la caudal (Figura 11a).

Entre los 162 a 207 días, las evaginaciones son más largas y el epitelio es cilíndrico simple, aunque en los estadios más tempranos puede ser biestratificado en la base. Entre los 216 a 221 días, se observan pliegues que involucran a la mucosa y la submucosa. Los enterocitos poseen áreas sin colorear que le otorga un aspecto vacuolado (Figura 11b, c, d).

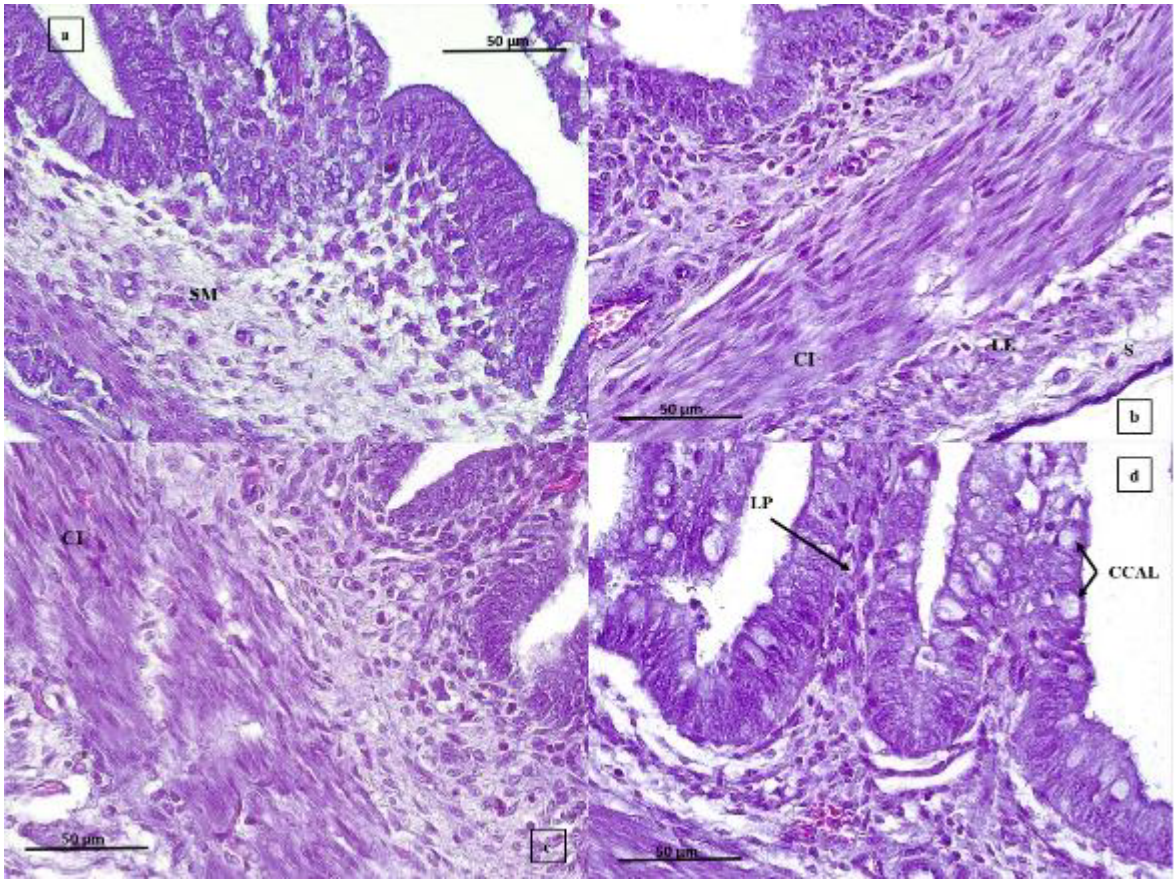


Figura 11: Yeyuno de fetos de alpaca de segundo tercio de gestación. a) 119 días; b), c) 207 días; d) 216 días. CCAL: células caliciformes, LE: capa longitudinal externa, CI: capa circular interna, LP: lámina propia, SM: submucosa, S: serosa. 40x. Coloración H-E.

Tercer tercio: Al día 230 de gestación, la estructura es similar a la encontrada al final del segundo tercio (Figura 12a). Entre los 293 a los 340 días, los pliegues son más manifiestos (Figura 12b, c, d, e), aparecen invaginaciones bien desarrolladas en la base de la vellosidad, y se observa el músculo de Brücke bien definido. Entre los 325 a 340 días, algunos enterocitos tienen un aspecto muy similar a los enterocitos maduros. Al final del periodo comienzan a observarse linfocitos intraepiteliales (Figura 12f, g, h).

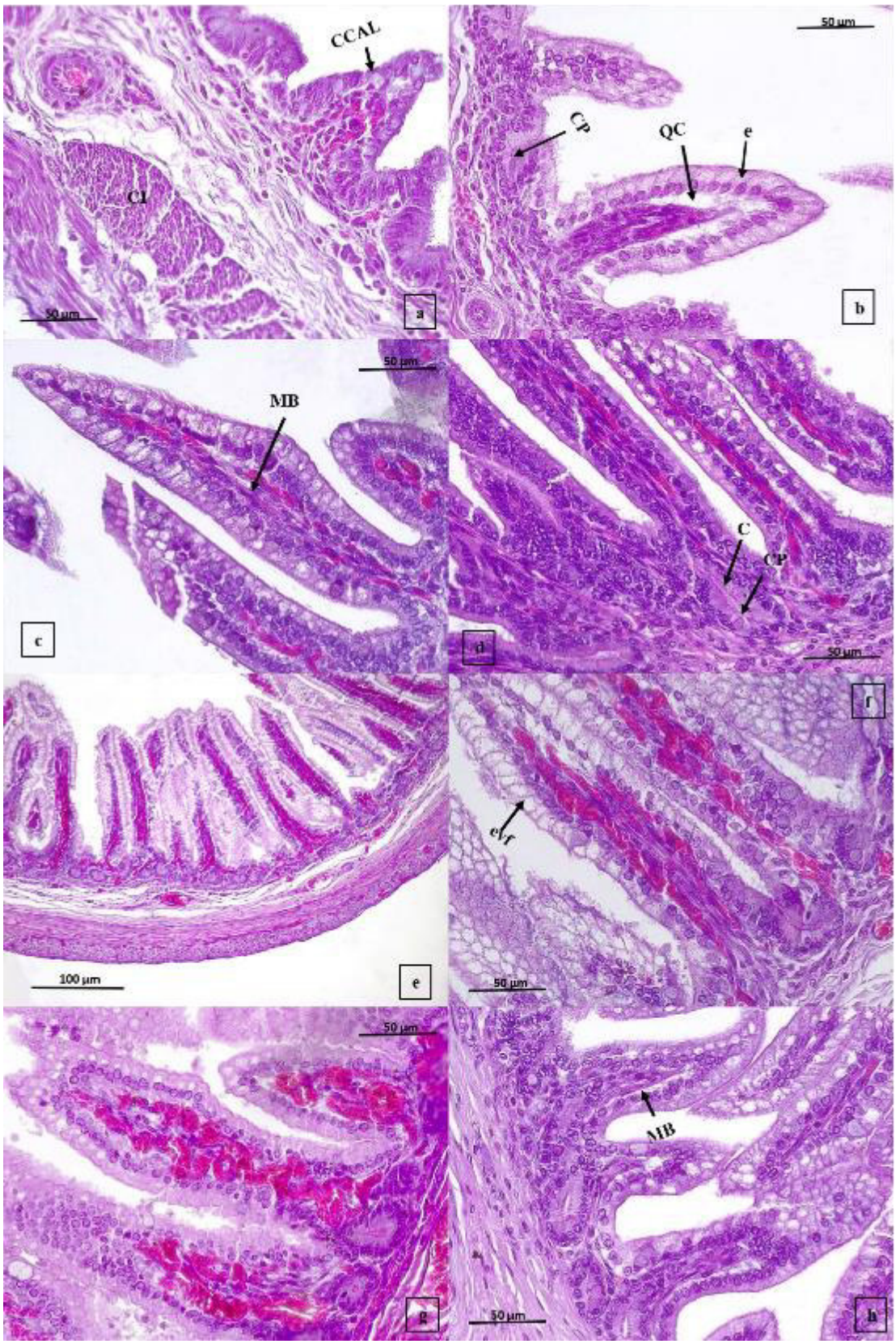


Figura 12: Yeyuno de fetos de alpacas de tercer tercio de gestación. a) 230 días, 40x; b), c), d) 293 días, 40x e) 317 días, 10x; f) 321 días, 40x; g) 325 días, 40x; h) 334 días, 40x. CCAL: células caliciformes, CI: capa circular interna, CP: células de Paneth, QC: quilífero central; e: enterocitos, evf: enterocito vacuolado fetal, MB: músculo de Brücke, C: cripta. Coloración H-E.

4.3.2.1.2.2 Periodo posnatal

En el momento del nacimiento, el aspecto es muy similar al encontrado al final del periodo fetal. Aparece en el yeyuno craneal una estructura en forma de gotera que en la base y laterales tiene epitelio plano estratificado y mucosa aglandular (Figura 13). Comienza en el ápice de la vellosidad un proceso que descamación que se hace mucho más evidente al día siguiente (día 1) y que va dirigiéndose hacia la base de la vellosidad. Se ven grandes cantidades de células muertas en el ápice de las vellosidades. A los 3 días, continúa el proceso de recambio celular. En el día 4, los enterocitos vacuolados solo persisten en la punta de la vellosidad y en el día 5 la totalidad de los enterocitos ya tienen un aspecto maduro. La infiltración linfoidea es muy manifiesta desde el nacimiento. A partir de este momento, la estructura es similar a la observada en el adulto (Figura 14).

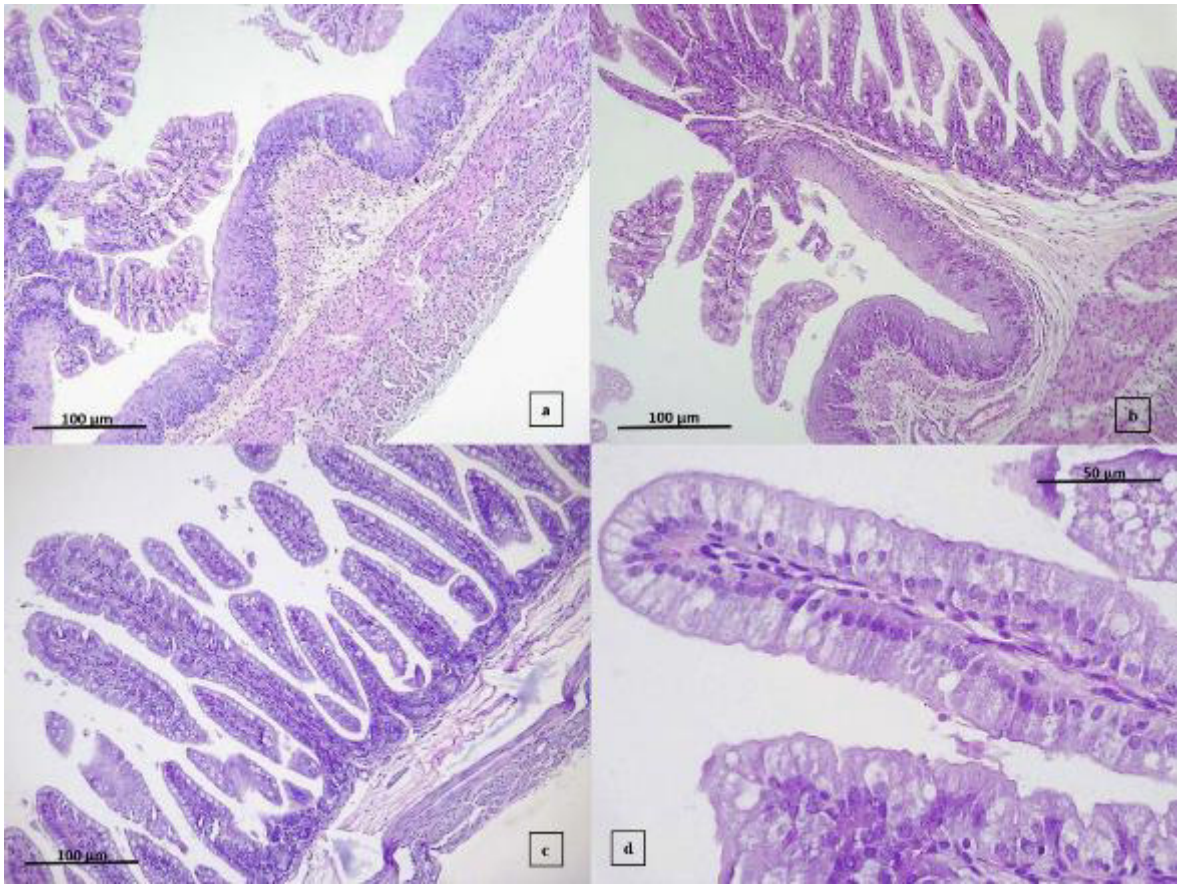


Figura 13: Yeyuno de crías de alpacas recién nacidas. 40x. Coloración H-E.

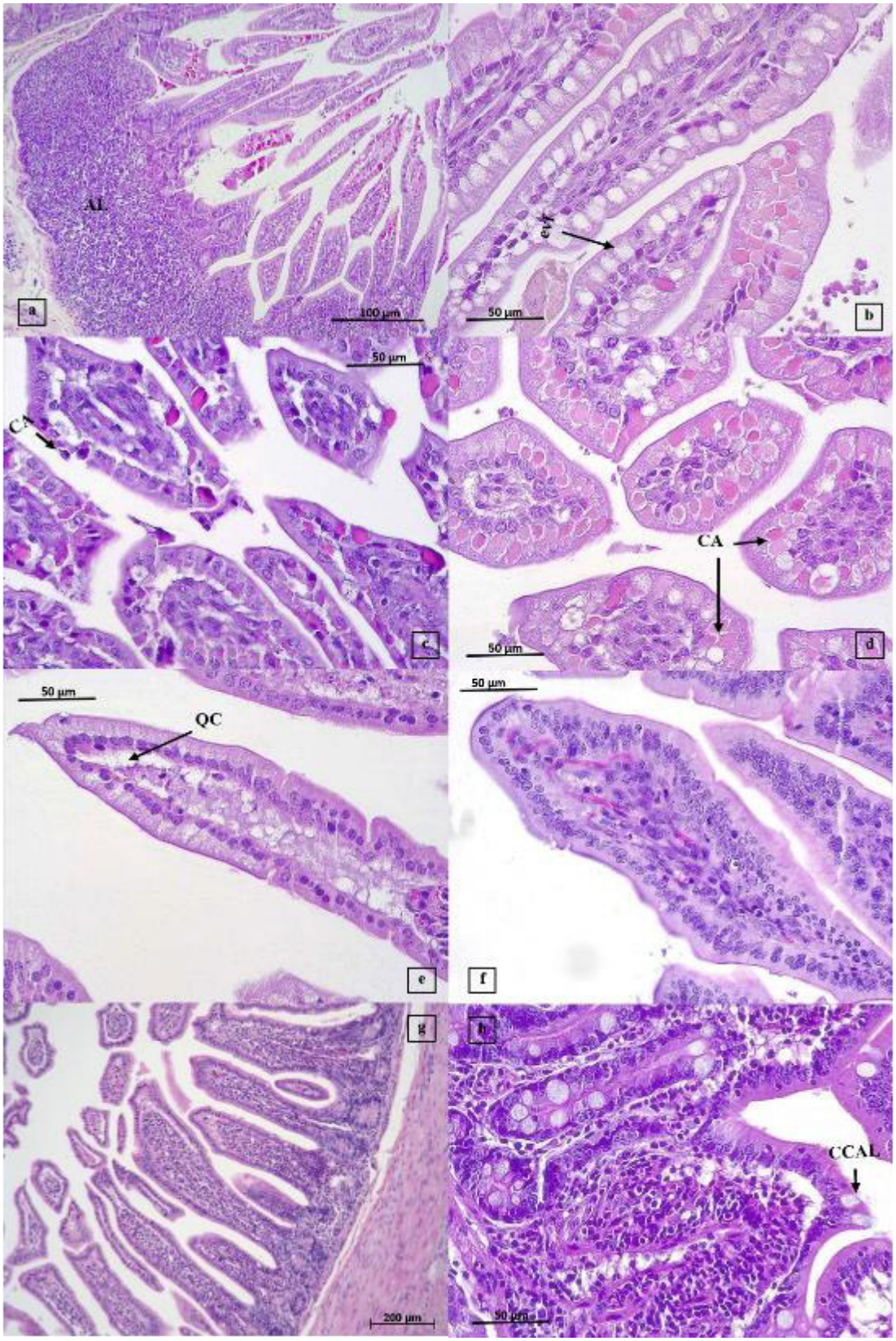


Figura 14: Yeyuno de alpacas etapa postnatal. Crías: a) 1 día, 10x. b), c), d) 1 día, 40x. e) 4 días, 40x. f) 5 días, 40x. g) 17 días, 10x. h) adulto, 40x. AL: agregado linfoide, evf: enterocito vacuolado fetal, CA: células en apoptosis, QC: quilífero central, CCAL: células caliciformes. Coloración H-E.

4.3.2.1.3 Íleon

4.3.2.1.3.1 Periodo fetal

Primer tercio: Esta región comienza a visualizarse en el día 80 del desarrollo prenatal; en ese momento aparecen pequeñas evaginaciones con eje mesenquimático y se encuentran diferencias entre la futura lámina propia y la submucosa. La muscular propia se observa con sus dos capas en proceso de diferenciación. El epitelio es cilíndrico estratificado con algunas células de citoplasma no coloreado. A los 103 días las evaginaciones son más grandes pero continúan recubiertas por un epitelio cilíndrico estratificado, con evaginaciones en su polo apical (ribete en cepillo), además se pueden observar CCAL (Figura 15).

Segundo tercio: Entre los 117 y 119 días las evaginaciones son más grandes. Están recubiertas por un epitelio cilíndrico estratificado que hacia la punta se hace simple; las CCAL son evidentes. Entre los 124 y 129 días, las evaginaciones son digitiformes y comienzan a asemejarse a las vellosidades típicas; están recubiertas por un epitelio cilíndrico simple y en su base hay pequeñas invaginaciones. En la base de las evaginaciones y en el espacio entre ellas, el epitelio aún presenta, en muchas zonas, dos capas celulares. Entre los 145 a 164 días la estructura es similar, aunque aparecen, en un gran número, enterocitos vacuolados. Entre los 207 a 216 días, se observan pliegues que involucran mucosa y submucosa. En el día 221 se reconocen criptas muy pequeñas, además se observa el músculo de Brücke en el eje de las vellosidades (Figura 16).

Tercer tercio: En el día 230, se puede observar agregados linfoides en la lámina propia y linfocitos intraepiteliales. En la zona en que los agregados linfoides contactan con el epitelio éste se hace más aplanado. Las vellosidades y las criptas están mejor organizadas.

A los 293 días las vellosidades y criptas son similares a las postnatales. Se pueden observar CP en las criptas, así como CCAL y enterocitos vacuolados en las vellosidades, estas últimas hasta el final del periodo forman la mayor parte del epitelio. Durante esta etapa comienzan a observarse evaginaciones con la forma típica de los domos relacionados con las Placas de Peyer (Figura 17).

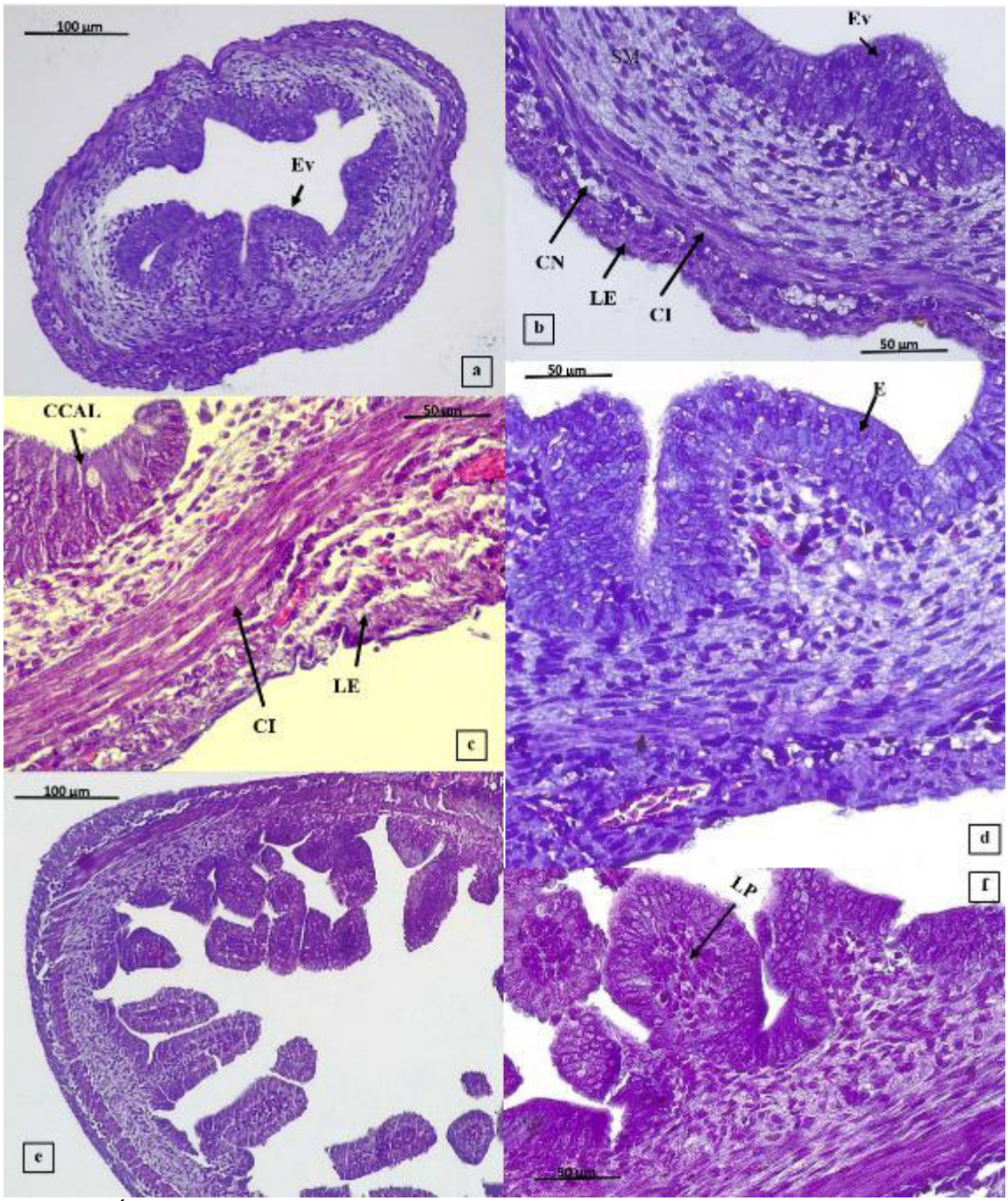


Figura 15: Íleon de fetos de alpacas de primer tercio de gestación. a) 80 días, 10x. b), c) 80 días, 40x. d) 103 días, 40x. e) 119 días, 10x. f) 119 días, 40x. Ev: evaginación, SM: submucosa, CCAL: células caliciformes, CN: células nerviosas, LE: capa longitudinal externa, CI: capa circular interna, E: epitelio, LP: lámina propia. Coloración H-E.

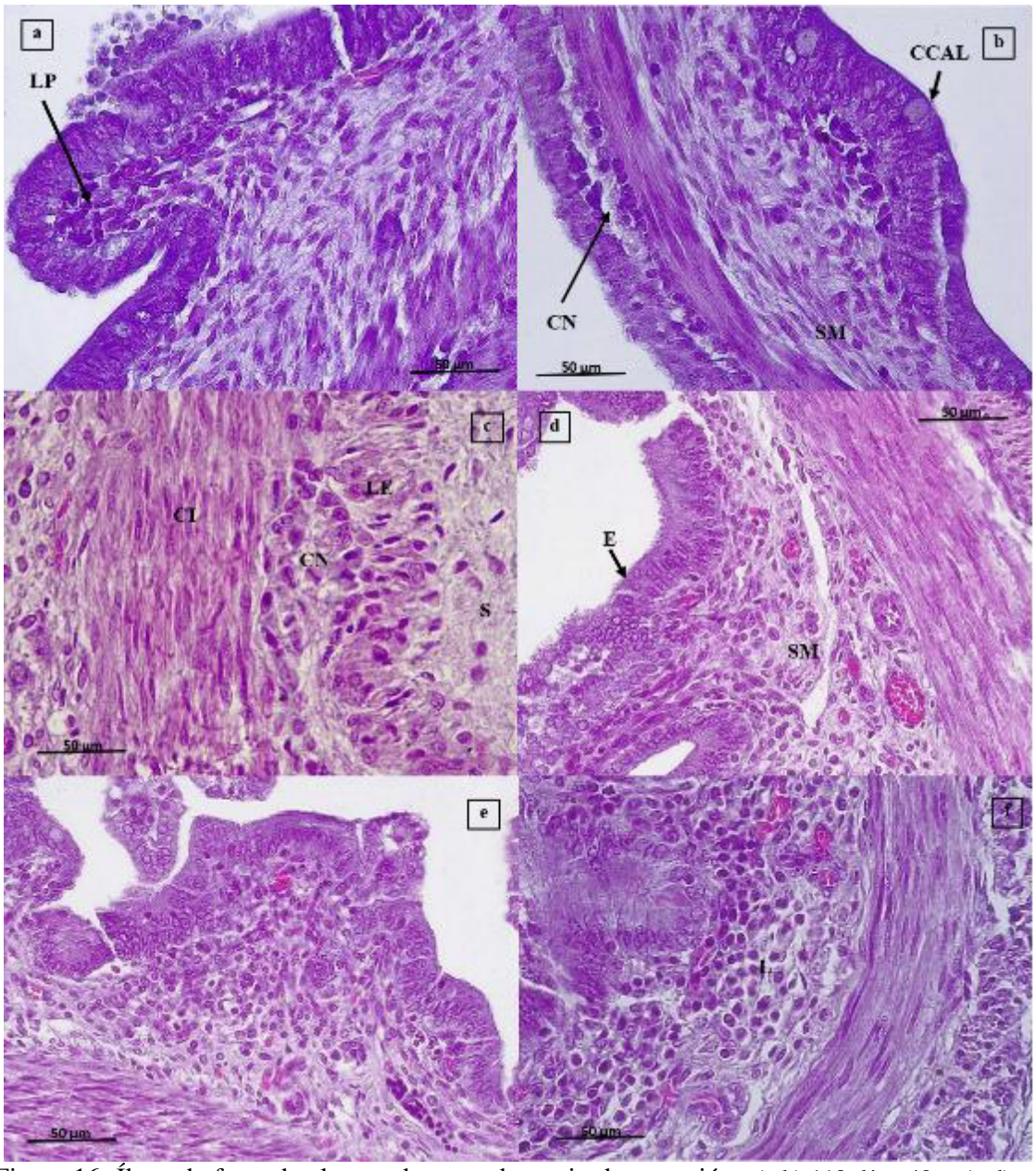


Figura 16: Íleon de fetos de alpacas de segundo tercio de gestación. a), b) 119 días, 40x. c), d), e) 207 días, 40x. f) 221 días, 40x. LP: lámina propia, CN: células nerviosas, CCAL: células caliciformes, CI: capa circular interna, LE: capa longitudinal externa, E: epitelio, SM: submucosa. Coloración H-E.

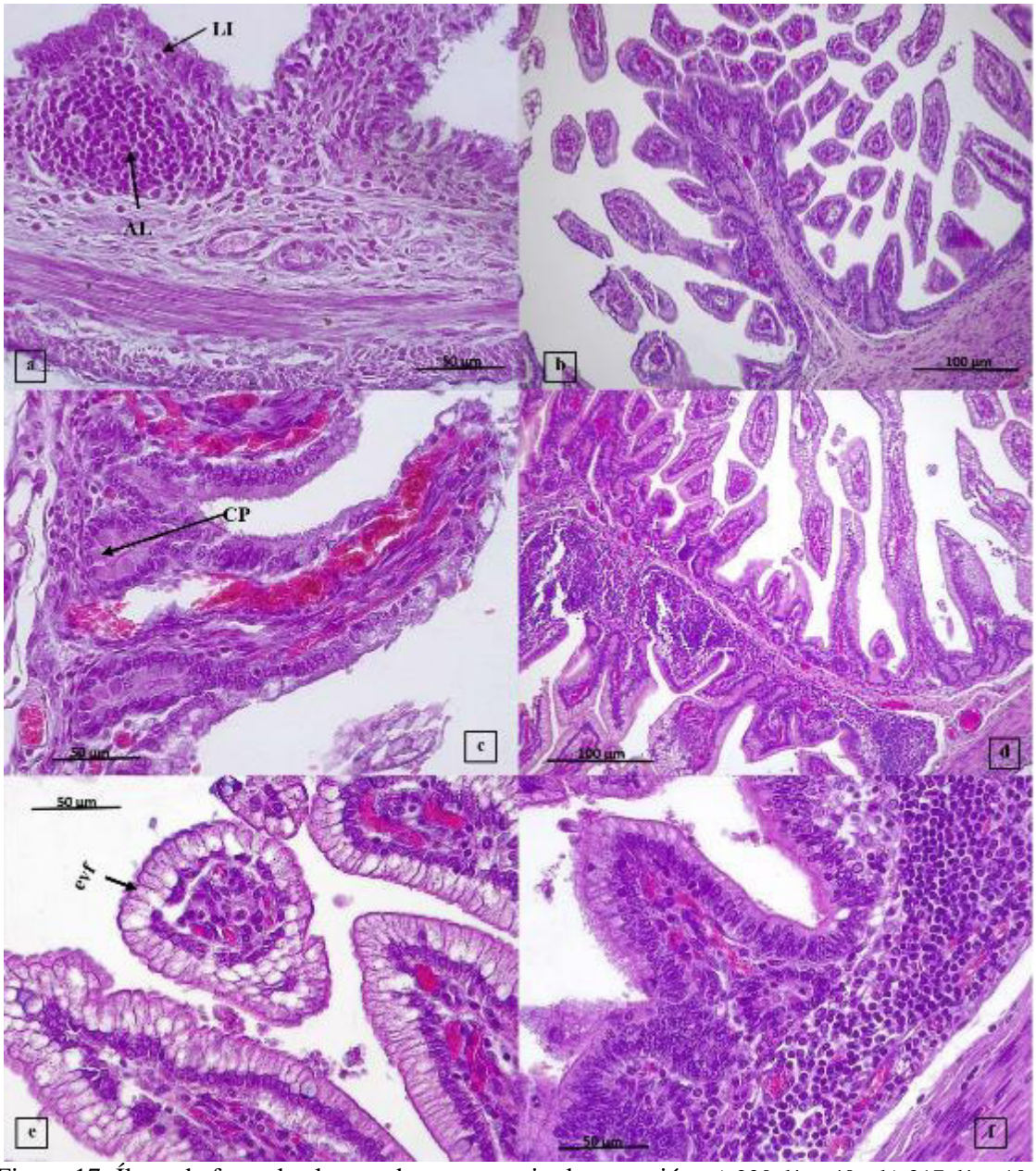


Figura 17: Íleon de fetos de alpacas de tercer tercio de gestación. a) 230 días, 40x. b) 317 días, 10x. c) 325 días, 40x. d) 334 días, 10x e). f) 334 días, 40x. LI: linfocito intraepitelial, AL: agregado linfoide, CP: célula de Paneth, evf: enterocito vacuolado fetal. Coloración H-E.

4.3.2.1.3.2 Periodo posnatal

En los neonatos se observan enterocitos vacuolados; hacia los 2 a 3 días son evidentes los procesos de muerte celular y descamación en las vellosidades, con abundante infiltración linfoidea y de polimorfonucleares (Figura 18). A los 4 días, la mayoría de los enterocitos vacuolados se eliminaron y a los 5 días han sido reemplazados por células de aspecto maduro.

Hacia los 15 días, el aspecto es similar. Se observa la morfología característica de los domos, aunque aún el epitelio se mantiene cilíndrico. A los 18 días, se observan las placas de

Peyer con epitelio asociado al folículo; a partir de este momento la estructura del íleon se conserva idéntica hasta la adultez (Figura 19).

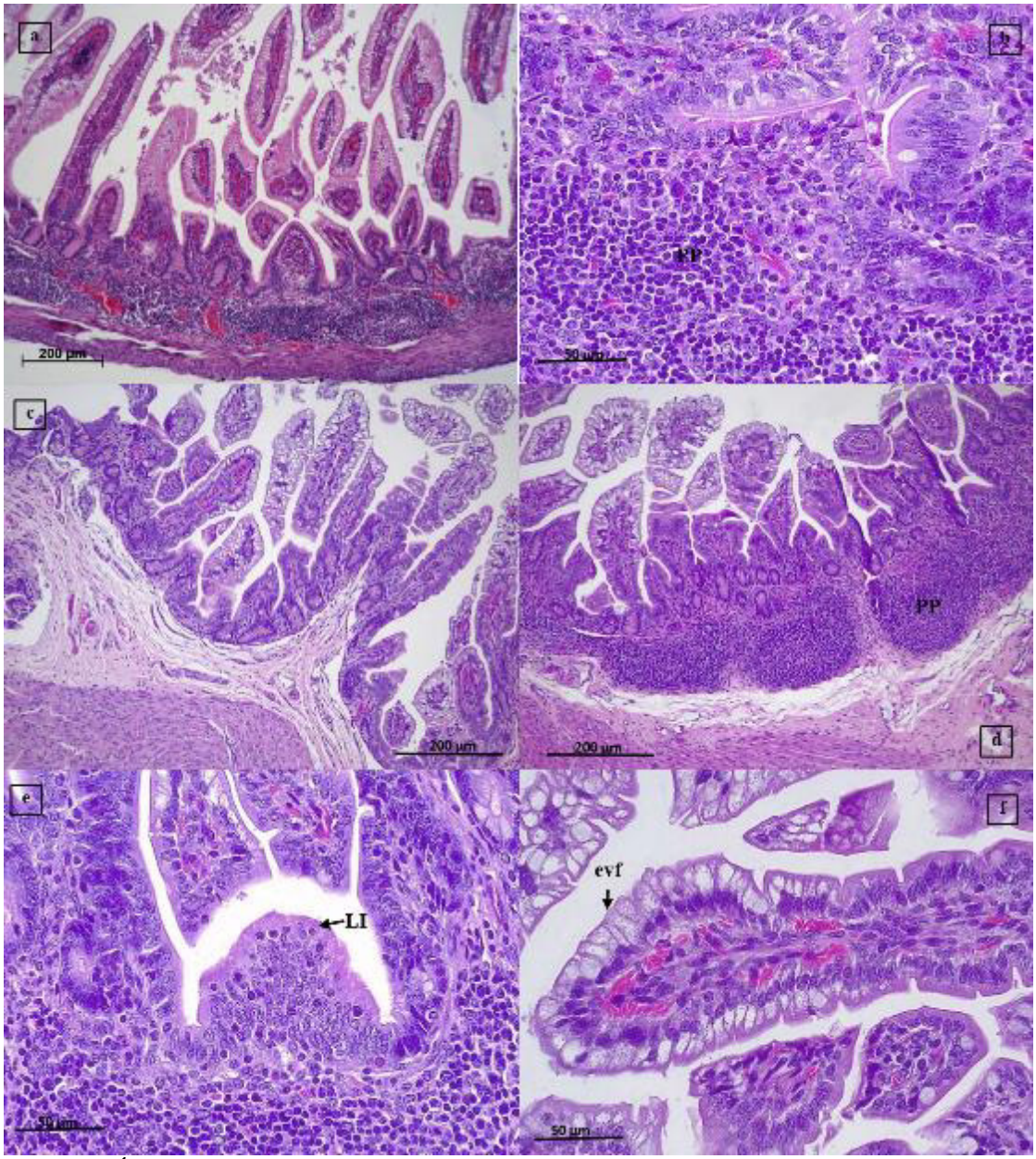


Figura 18: Íleon de crías de alpacas. a) Recién nacido, 10x. b) 2 días, 40x. c), d) 3 días, 10x. e), f) 3 días, 40x. LI: linfocito intraepitelial, PP: placa de Peyer, evf: enterocito vacuolado fetal. Coloración H-E.

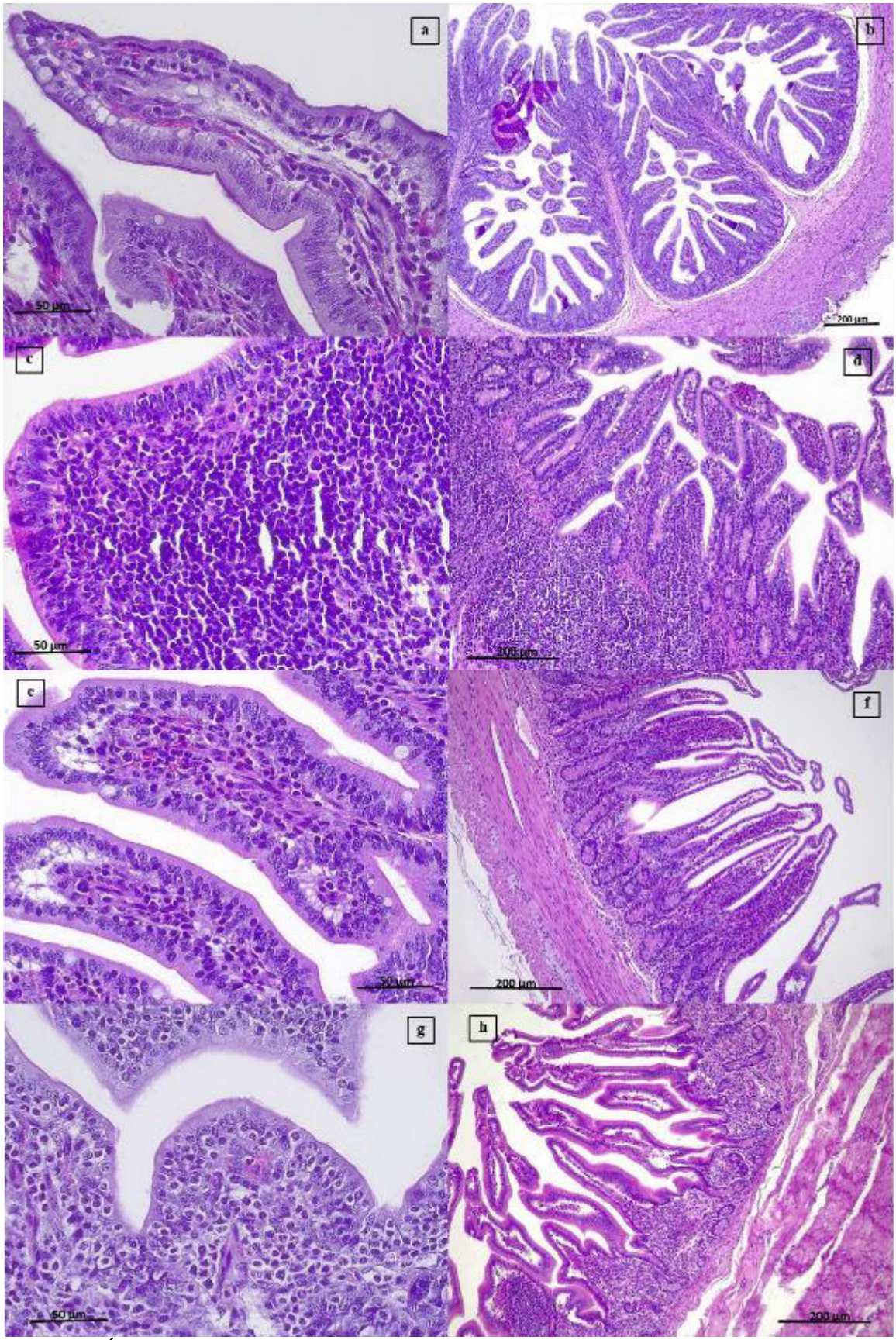


Figura 19: Íleon de alpacas etapa postnatal. Crías: a) 4 días, 40x. b) 5 días, 5x. c) 15 días 40x. d) 17 días, 10x. e) 18 días, 40x. f) 27 días, 10x. g) 42 días, 40x. h) adultos, 10x. Coloración H-E.

4.3.2.2 Intestino Grueso

4.3.2.2.1 Ciego

4.3.2.2.1.1 Etapa Fetal

Primer tercio: A los 46 días aún no hay desarrollo de ciego. A los 57 días, se puede observar una pequeña saculación que será el futuro ciego. Esta saculación posee un epitelio cilíndrico estratificado con algunas células con citoplasma que no han coloreado. El mesénquima y la muscular propia se encuentran en diferenciación y no se observan evaginaciones (Figura 20a).

A los 80 días el epitelio es cilíndrico estratificado, pero ya se observan algunas CCAL diferenciadas. Aparecen evaginaciones que poseen un eje mesenquimático y la muscular propia se encuentra en proceso de diferenciación (Figura 20b).

A los 103 días, el epitelio todavía es cilíndrico estratificado; se pueden observar evaginaciones medianas y otras digitiformes; las capas de la túnica muscular están bien diferenciadas (Figura 20c, d).

Segundo tercio: Entre los 117 y 119 días, el epitelio es cilíndrico estratificado, pero hacia la punta de las vellosidades solo posee dos capas de células, e inclusive en fetos de 119 días se puede observar por regiones que el epitelio es simple y por zonas se observa la chapa estriada (Figura 21a, b).

A los 124 días, se reconocen invaginaciones en la base de las vellosidades que se hacen más largas hacia los 129 días. A los 141 días, el epitelio es cilíndrico simple o, en algunas regiones, biestratificado. Se observa una lámina propia más celular y una submucosa más densa, entre ellas comienzan a aparecer las fibras precursoras de la muscular de la mucosa. Entre los 145 y los 164 días las vellosidades son largas con un epitelio cilíndrico simple. En muestras de fetos de 164 días, se observa en la base de las evaginaciones de algunas regiones, epitelio biestratificado con CCAL y evaginaciones digitiformes más largas y numerosas (Figura 21c).

Hacia los 207 días, los pliegues y las evaginaciones son más largas, el epitelio es cilíndrico simple y se observan algunos linfocitos intraepiteliales. Las criptas se encuentran en formación con un incremento del número de CCAL; también se puede observar el músculo de Brücke. Hacia el final del periodo (216 a 221 días) las criptas se observan bien definidas con células en división. Las CCAL están dispersas de forma regular en todo el epitelio; además, se observa también un mayor número de pliegues (Figura 21d, e, f, g, h).

Tercer tercio: al inicio de este tercio las características son similares a las halladas en el segundo tercio. Conforme avanza el periodo, se observa que las criptas se han desarrollado, las

vellosidades son cortas con un epitelio apical que muestra características de apoptosis tales como forma esférica, citoplasma muy eosinofílico, condensación y fragmentación del núcleo, separación de la célula de la lámina basal y de células vecinas, y fragmentación celular. Al final del periodo las criptas son más largas y están más organizadas, en cambio la longitud de las vellosidades se sigue reduciendo, con presencia de células muy eosinófilas en el epitelio superficial (Figura 22).

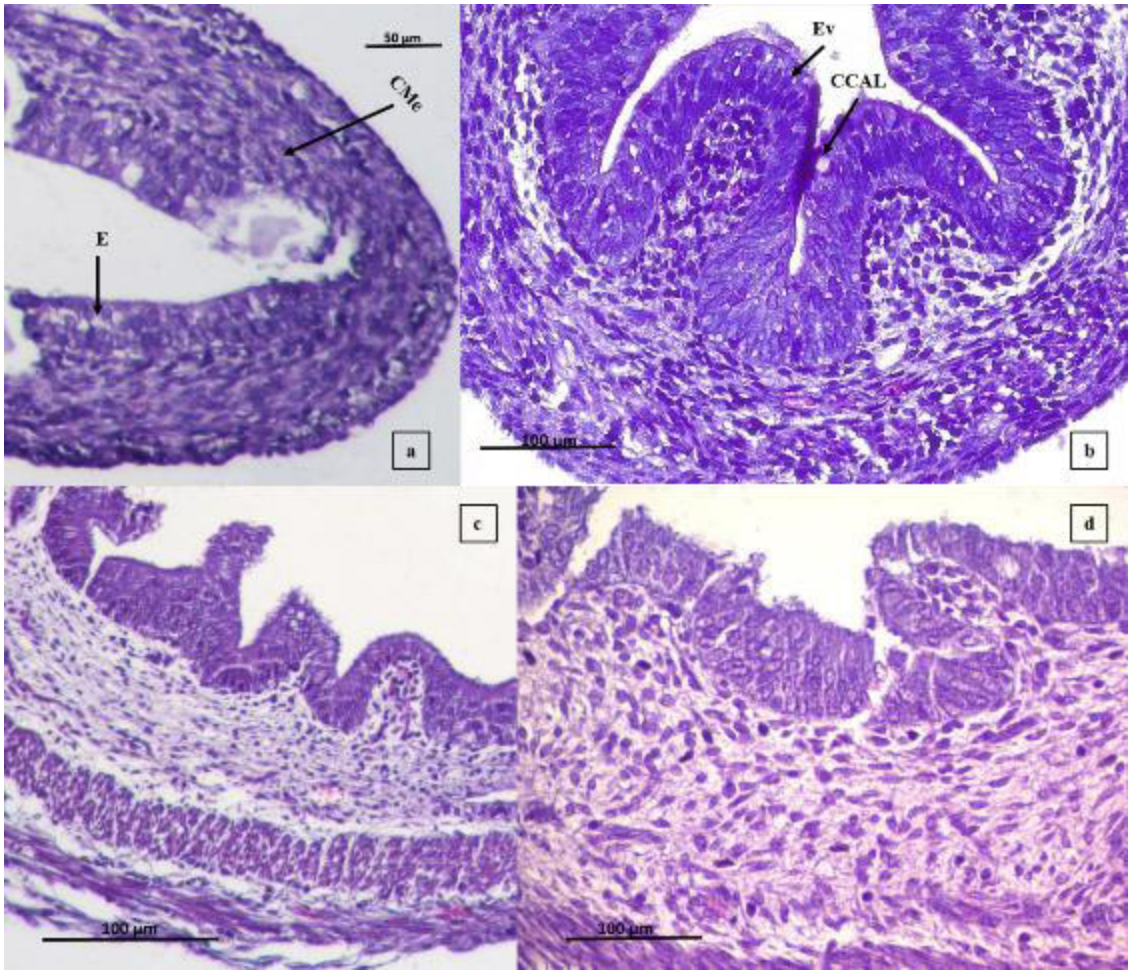


Figura 20: Ciego de fetos de alpaca de primer tercio de gestación. a) 56 días, 40x. b) 80 días, 40x. c), d) 103 días 40x. E: epitelio, CMe: células mesenquimales, CCAL: células caliciformes, Ev: evaginación. Coloración H-E.

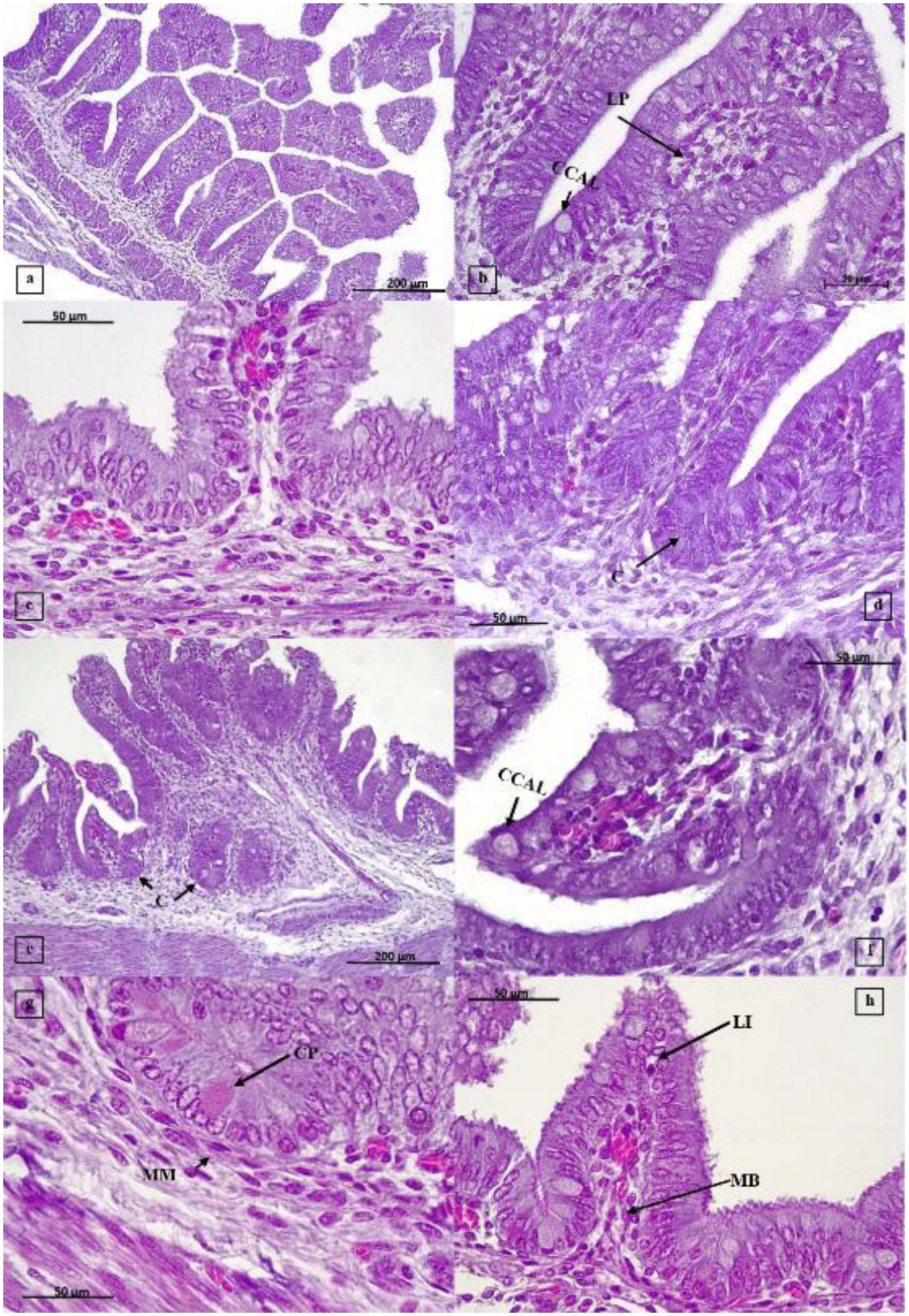


Figura 21: Ciego de fetos de alpaca de segundo tercio de gestación. a) 119 días, 10x. b) 110 días, 40x. c) 164 días 63x. d) 207 días, 40x. e) 207 días, 10x. f) 207 días, 63x. g) 207 días, 63x. h) 221 días, 63x. LP: lámina propia, CCAL: células caliciformes, C: cripta, MM: muscular de la mucosa, CP: célula de Paneth, LI: linfocito intraepitelial. Coloración H-E.

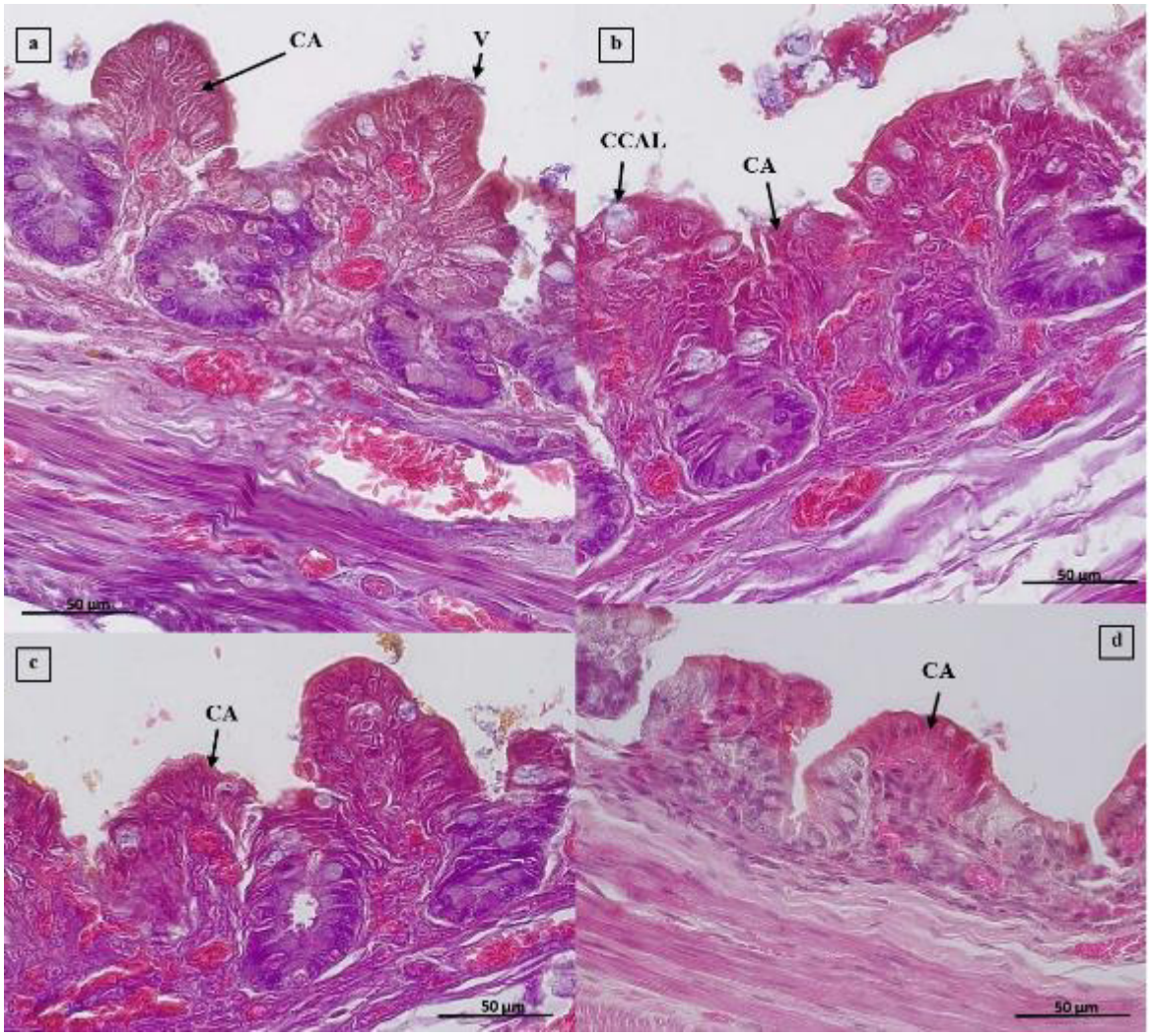


Figura 22: Ciego de fetos de alpaca de tercer tercio de gestación. a) 293 días, 40x. b), c) 325 días, 40x. d) 334 días, 40x. V: vellosidad, CA: células en apoptosis, CCAL: células caliciformes. Coloración H-E.

4.3.2.2.1.2 Etapa postnatal

En el neonato y en el primer día de vida el aspecto del tejido es muy similar, aunque se observan criptas más largas, así como la presencia de CP. A los dos días se alternan enterocitos de aspecto adulto mezclados con las células en proceso de muerte. A los 4 días, casi la totalidad de los enterocitos tienen el aspecto adulto. En el día 5 desaparecen por completo las vellosidades y no se observan CP, las criptas se hacen profundas y aumenta el número de CCAL. Estas características se mantienen en los días siguientes con la diferencia que se incrementa la infiltración linfoidea; la morfología se mantiene de forma similar hasta la adultez (Figura 23).

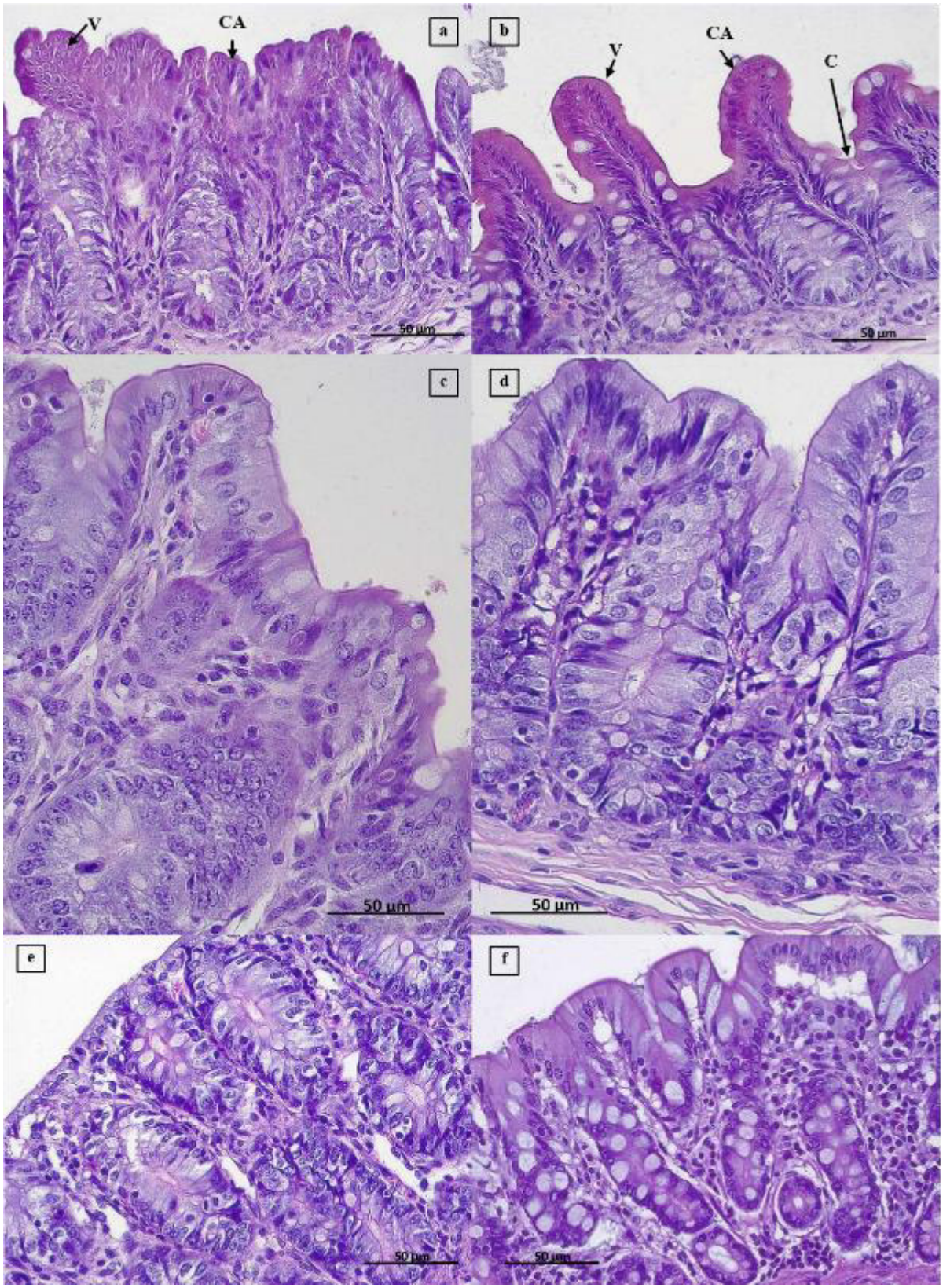


Figura 23: Ciego de alpacas. Crías: a) Recién nacido, 40x. b) 1 día, 40x. c) 2 días, 40x. d) 4 días, 40x. e) 21 días, 40x. f) Adulto, 40x. V: vellosidad, CA: células en apoptosis, C: cripta. Coloración H-E.

4.3.2.2.2 Colon

A los 46 días se observa una porción muy pequeña de colon, sin poderse diferenciar sectores. Al examen microscópico se reconoce un epitelio cúbico o cilíndrico estratificado, el mesénquima no se ha diferenciado y la muscular propia se encuentra en proceso de diferenciación. No se evidencian evaginaciones de la mucosa (Figura 24).

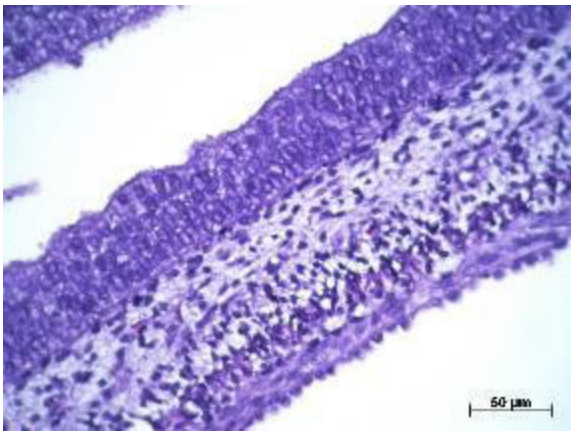


Figura 24: Colon de feto de alpaca de 46 días de gestación. 40x. Coloración H-E.

4.3.2.2.3 Colon ascendente

4.3.2.2.3.1 Etapa fetal

Primer tercio: A los 57 días se observan escasas evaginaciones cortas. El mesénquima no se diferencia en lámina propia y submucosa. La túnica muscular posee dos capas en proceso de diferenciación. El epitelio es cúbico-cilíndrico estratificado con algunas células de citoplasma pálido (Figura 25a, b).

A los 80 días las evaginaciones son más largas y numerosas. En el mesénquima ya se reconocen una zona más celular subyacente al epitelio y una menos celular cercana a la muscular. El epitelio cilíndrico estratificado posee menos capas hacia la punta de la evaginación, en algunas zonas se puede observar chapa estriada, así como CCAL diferenciadas (Figura 25c).

A los 103 días, las vellosidades son más largas y numerosas, y se pueden observar algunas fibras de la muscular de la mucosa. Hacia la punta de las evaginaciones el epitelio es cilíndrico simple y hacia la base es cilíndrico estratificado (Figura 25d).

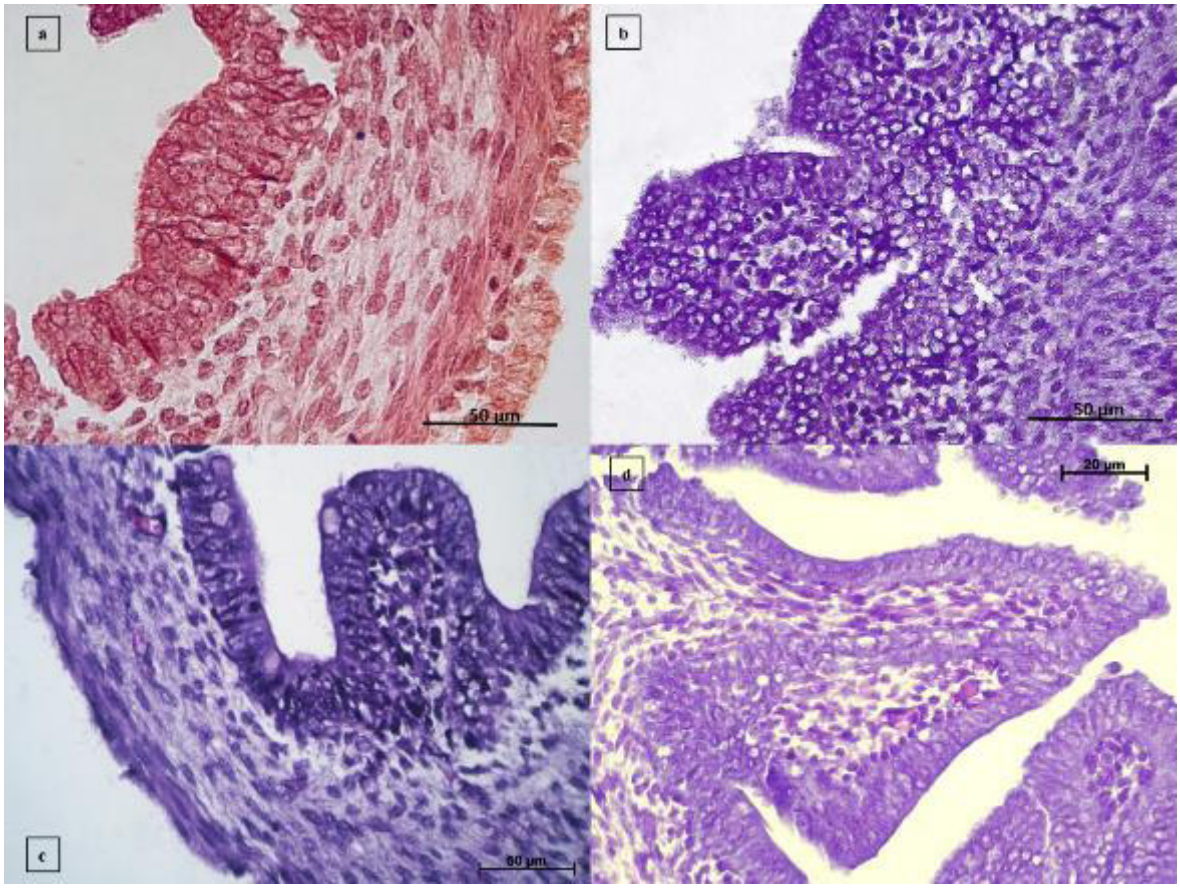


Figura 25: Colon ascendente de fetos de alpaca de primer tercio de gestación. a) 56 días, Tricrómico de Masson. b) 59 días, HE. c) 80 días, H-E. d) 103 días, H-E. 40x

Segundo tercio: En animales de entre 117 y 129 días de vida prenatal se observan pequeñas invaginaciones del epitelio, que es cilíndrico simple excepto en algunas regiones de la base de las evaginaciones donde se ven dos o más capas celulares (Figura 26a, b).

Entre los 141 y164 días, algunas evaginaciones son más largas y digitiformes; se forman pliegues que incluyen mucosa y submucosa y el epitelio es cilíndrico simple en casi la totalidad del epitelio. A los 207 días las evaginaciones son más numerosas y en su totalidad poseen forma digitiforme. Las invaginaciones son más profundas y el número de CCAL es mayor (Figura 26c, d, e, f).

Entre los 216 y los 221 días de gestación, los pliegues son bien evidentes, se puede distinguir el músculo de Brücke en las vellosidades. Las criptas ya están formadas. Aparecen linfocitos intraepiteliales y agregados linfoides en la lámina propia (Figura 26g, h).

Tercer tercio: Las características histológicas son similares a las del final del tercio anterior, y además se observan CP en la base de las criptas. Entre los 293 a 340 días, se siguen observando CP en las criptas. Las vellosidades son cortas con células en proceso muerte en sus ápices (Figura 27).

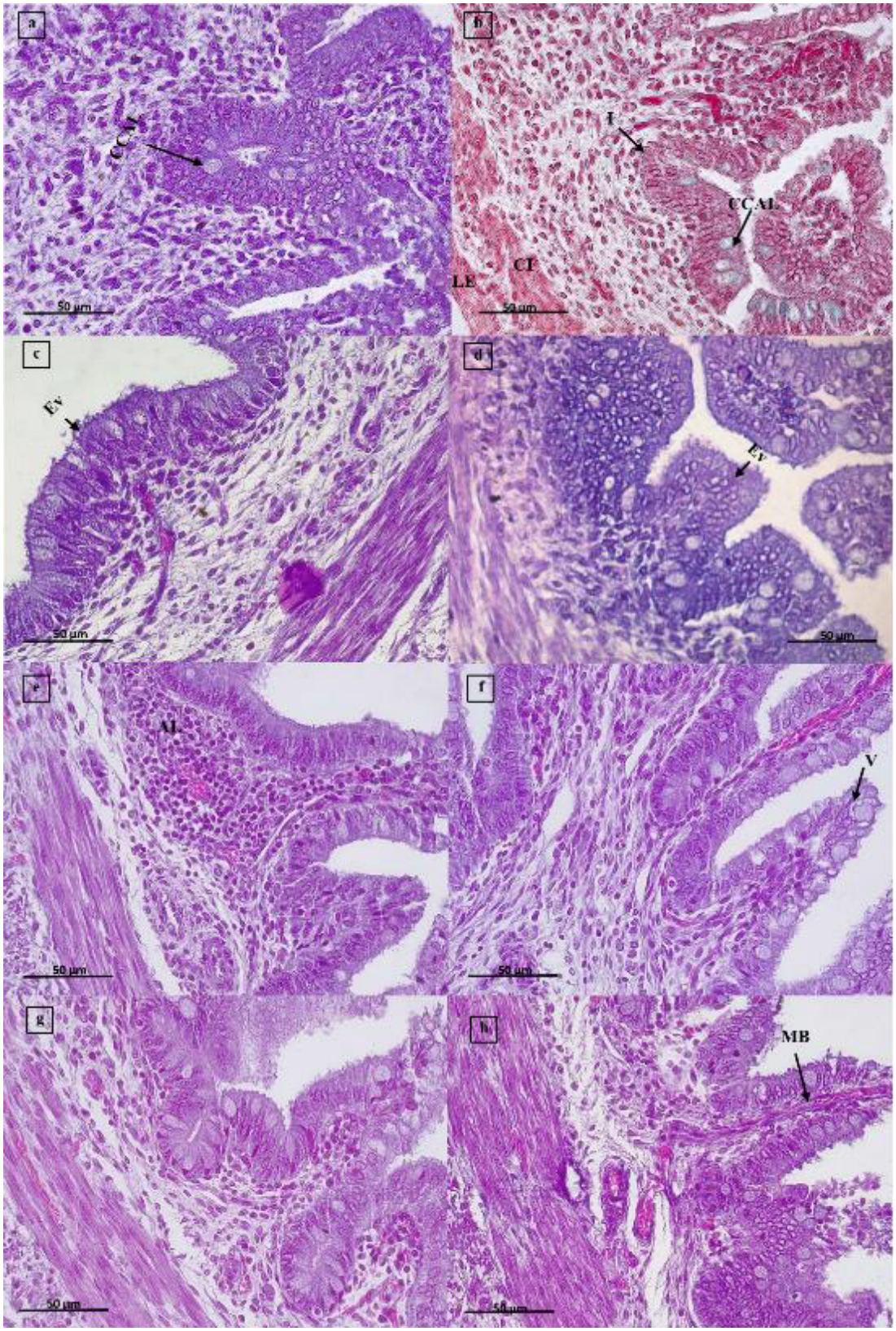


Figura 26: Figura 26: Colon ascendente de fetos de alpaca de segundo tercio de gestación. a) 117 días, H-E. b) 129 días, Tricrómico de Masson. c) 141 días, H-E. d) 145 días, H-E. e) 206 días, H-E. f) 207 días, H-E. g) 216 días, H-E. h) 221 días, H-E. CCAL: células caliciformes, I: invaginación, CI: capa circular interna, LE: capa longitudinal externa, Ev: evaginación, V: vellosidad, AL: agregado linfoide, MB: músculo de Brücke. 40x

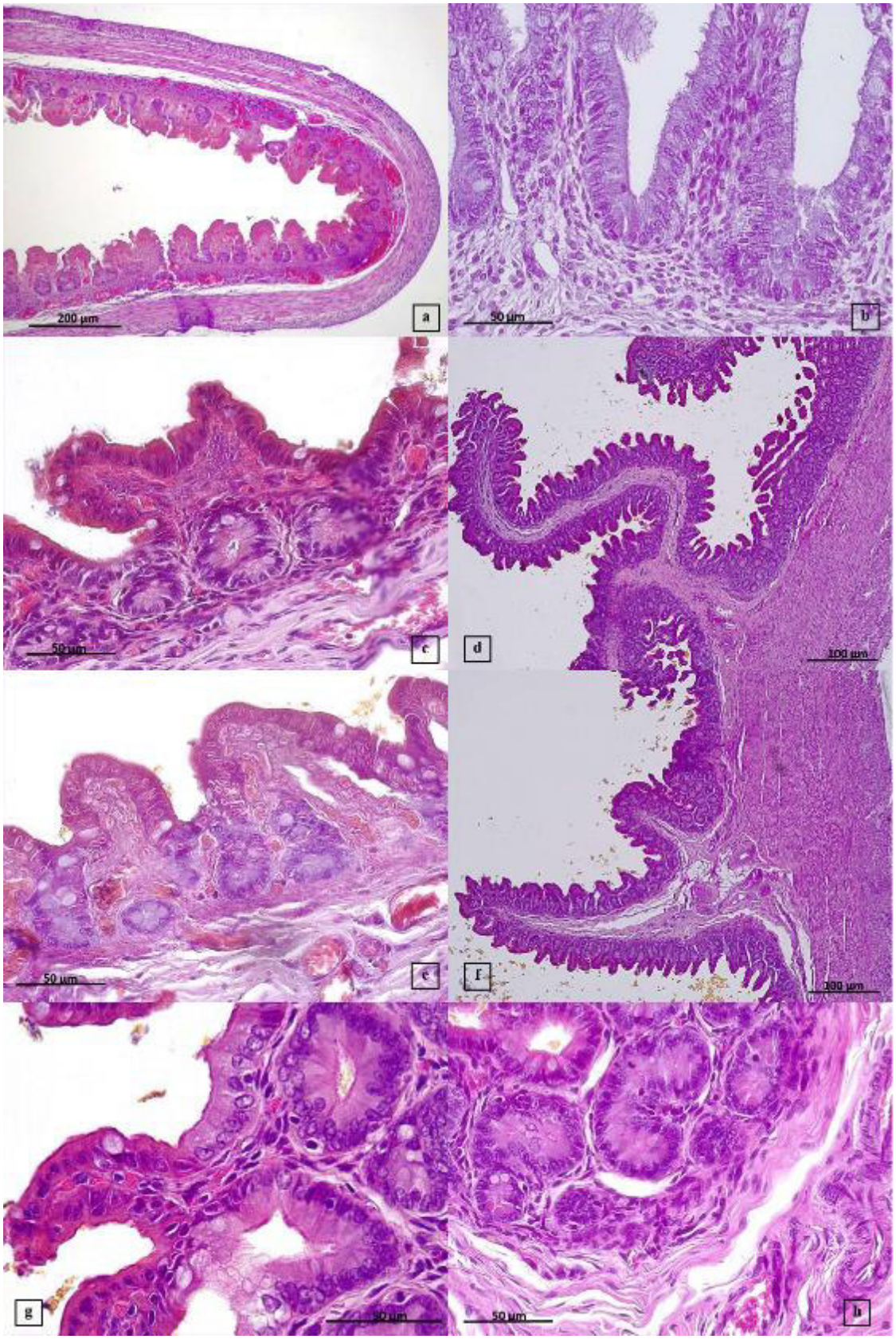


Figura 27: Colon ascendente de fetos de alpaca de tercer tercio de gestación. a) 230 días, 10x. b) 230 días, 40x. c) 317 días, 40x. d) 320 días, 5x. e) 325 días, 40x. f) 334 días, 5x. g) 334 días, 63x. h) 334 días, 40x. Coloración H-E.

4.3.2.2.3.2 Etapa Postnatal

En el nacimiento, las características son similares a las observadas al final de la etapa prenatal (Figura 28a). Entre los días 1 y 7, el proceso de maduración continúa, las vellosidades van desapareciendo y se observan células con signos de apoptosis: pérdida de unión a las células vecinas, marcada eosinofilia, forma esférica, fragmentación celular, condensación y fragmentación nuclear (Figura 28b, c, d). Hacia el día 7, la casi totalidad del epitelio tiene el aspecto diferenciado con enterocitos, CCAL y algunas CP, estas últimas desaparecen en los siguientes días (Figura 29a, b). A partir de la segunda semana, ya no se encuentran restos de vellosidades ni de grupos celulares en descamación, características que se mantienen hasta la edad adulta (Figura 29c, d, e, f, g, h).

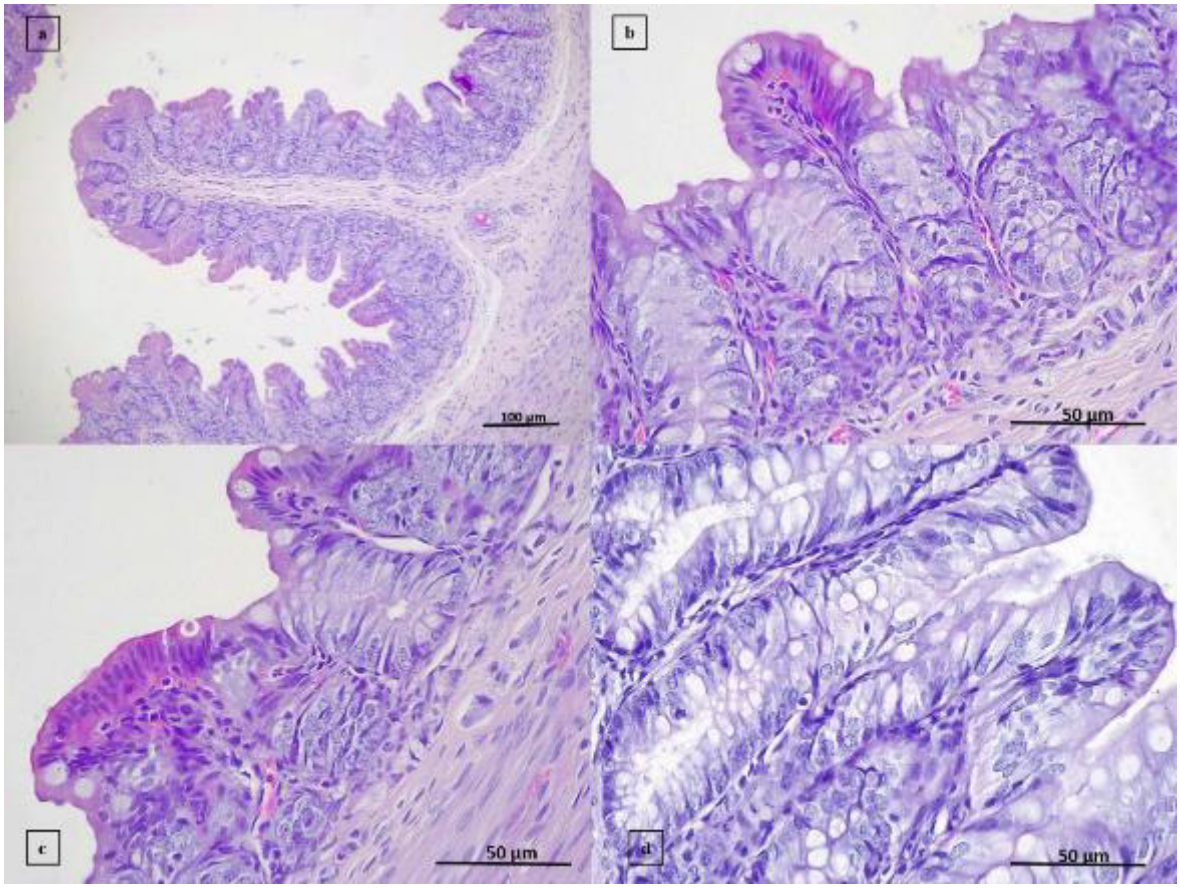


Figura 28: Colon Ascendente de crías de alpaca. a) Recién nacido, 10x. b), c) 1 día, 40x. d) 4 días, 40x. Coloración H-E.

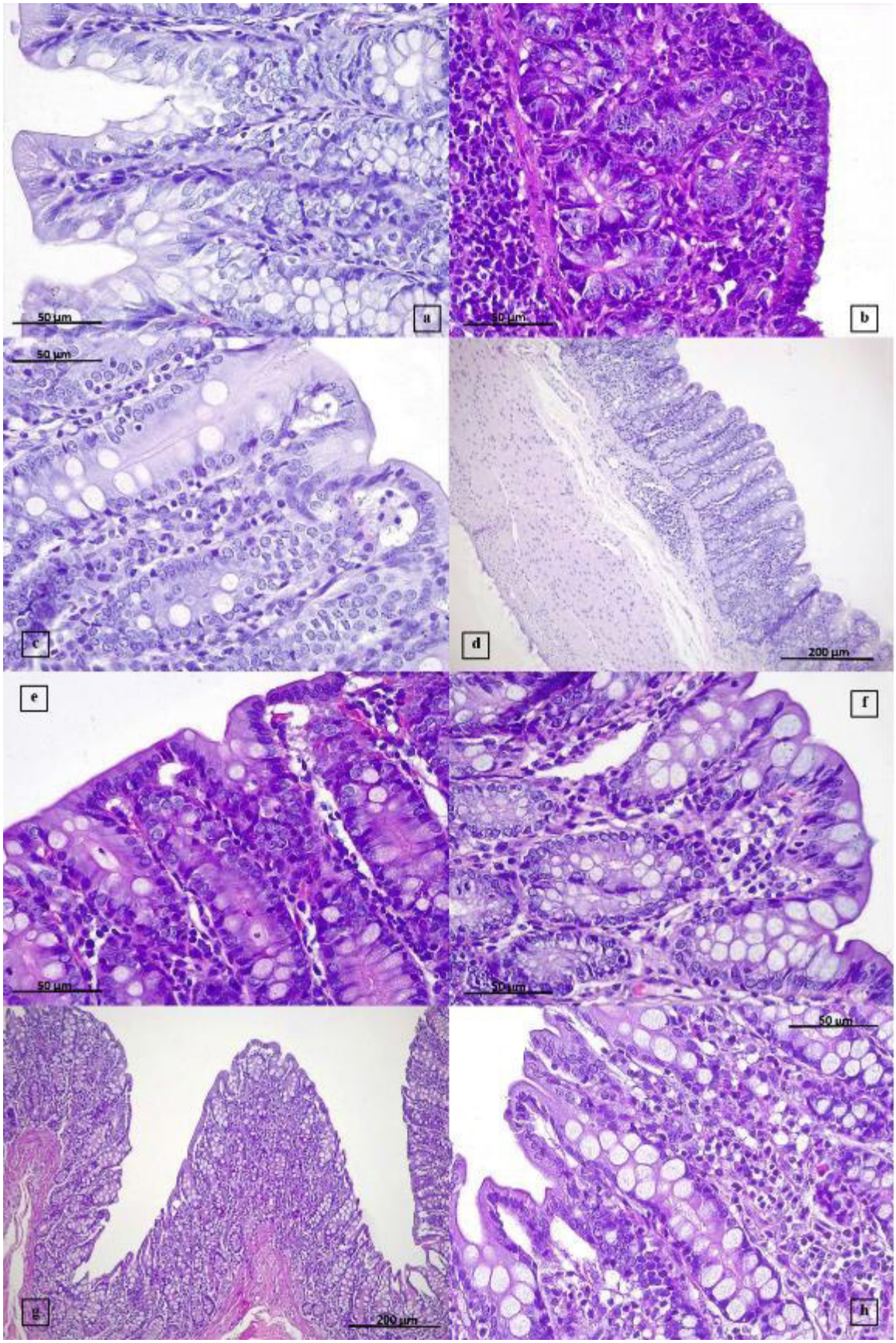


Figura 29: Colon ascendente de alpacas. Crías: a) 5 días, 40x. b) 7 días 40x, c) 11 días, 40x. d) 21 días, 10x. e) 21 días, 40x. f) 43 días, 40x. g) adulto, 10x. h) Adulto, 40x. Coloración H-E.

4.3.2.2.4 Colon Transverso

4.3.2.2.4.1 Etapa fetal

Primer tercio: Esta porción no se pudo observar en muestras de animales de 46 y 57 días, recién la encontramos desarrollada en las muestras de 80 días. En este estadio, la mucosa forma evaginaciones pequeñas, en las cuales la lámina propia y la submucosa no se distinguen. Se encuentra tejido mesenquimático primitivo entre el epitelio y el músculo. La túnica muscular propia posee sus capas circular interna y longitudinal externa en proceso de diferenciación. El epitelio es cilíndrico estratificado (por lo general con 2 a 3 capas de células), pero en el ápice de las evaginaciones es epitelio cilíndrico simple con chapa estriada. En algunas células el citoplasma no se colorea y su aspecto empieza a parecerse al de las CCAL. Se encuentran algunas células con citoplasma eosinofílico y forma bien alargada (Figura 30a, b, c).

A los 103 días las evaginaciones son más grandes y las CCAL están más diferenciadas; el tejido mesenquimático comienza a diferenciarse en una zona más celular cercana al epitelio y otra menos celular colindante con la túnica muscular (Figura 30d, e).

Al final de la etapa prenatal, las criptas son más profundas y organizadas; el citoplasma de las células del epitelio que recubre las vellosidades es bien acidófilo y con un núcleo de aspecto apoptótico, observándose que algunas de estas células están en descamación (Figura 30f).

Segundo tercio: Al inicio de este tercio, el aspecto de esta región es muy similar al que se observó al final del primer tercio. Entre los 119 y 129 días, las evaginaciones toman el aspecto de vellosidades, se puede observar algunas células de la futura muscular de la mucosa y continúa la diferenciación de los tejidos muscular y conectivo. El epitelio es cilíndrico simple en algunas regiones intervellosas (Figura 31a, b, c).

Entre los 141 a 164 días, las vellosidades se alargan y son digitiformes; durante este periodo el epitelio es simple en la mayor parte de la región y se incrementa el número de CCAL (Figura 31 d). Las invaginaciones comienzan a formarse entre los días 207 a 221; la muscular de la mucosa se va haciendo continua y la mucosa está recubierta por epitelio cilíndrico simple en toda la extensión (Figura 31e, f).

Tercer tercio: Entre los días 230 a 293, las vellosidades van disminuyendo tanto en número como en longitud y las invaginaciones se alargan tomando el aspecto típico de las criptas intestinales. Entre los 317 a 325 días, las evaginaciones son cada vez más escasas y pequeñas y las criptas son más profundas. Aparecen pliegues que incluyen mucosa y submucosa y el número de CCAL sigue incrementándose (Figura 32).

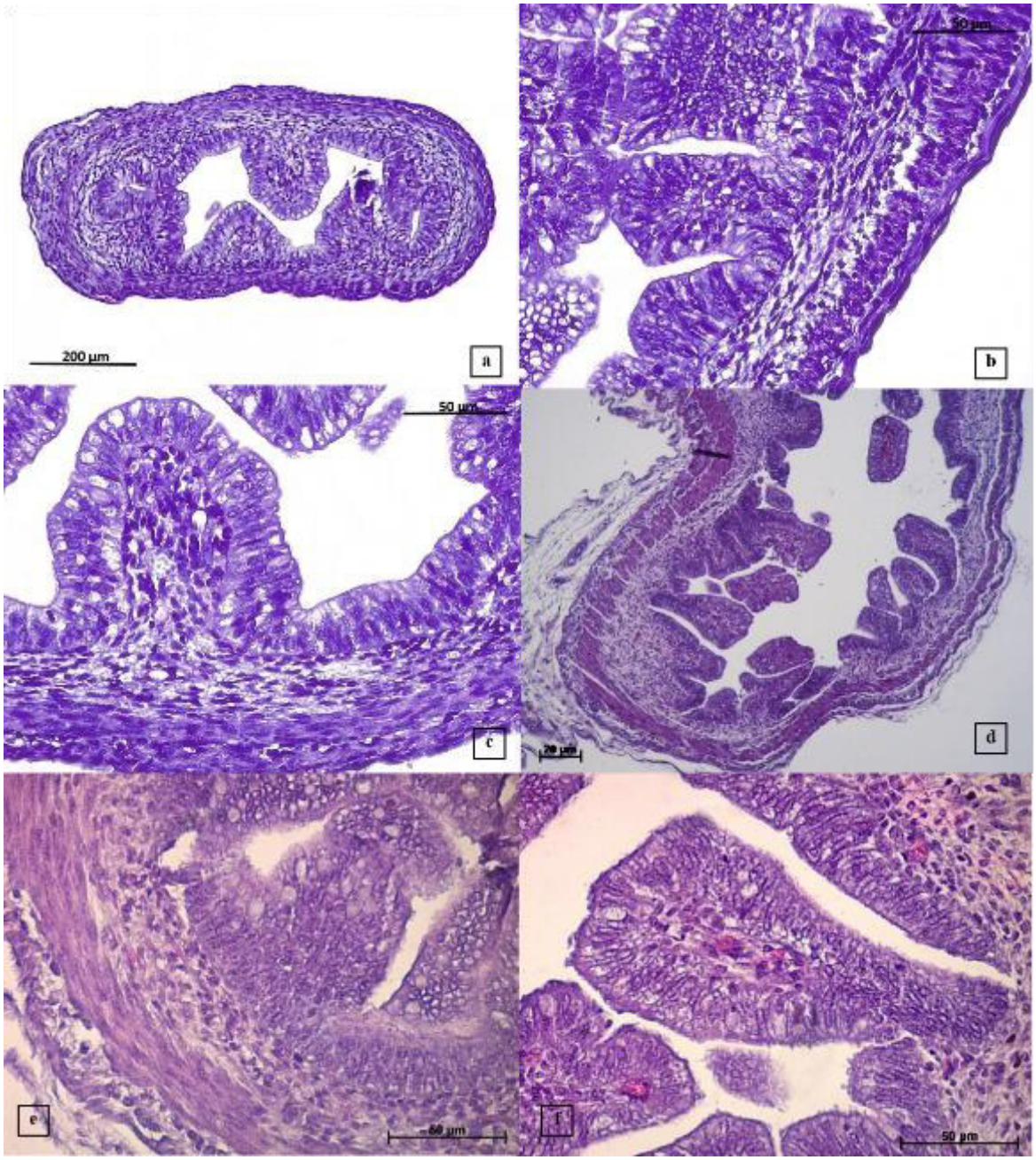


Figura 30: Colon transverso de fetos de alpaca de primer tercio de gestación. a) 80 días, 10x. b), c) 80 días, 40x. d) 103 días, 10x. e), f) 103 días, 40x. Coloración H-E.

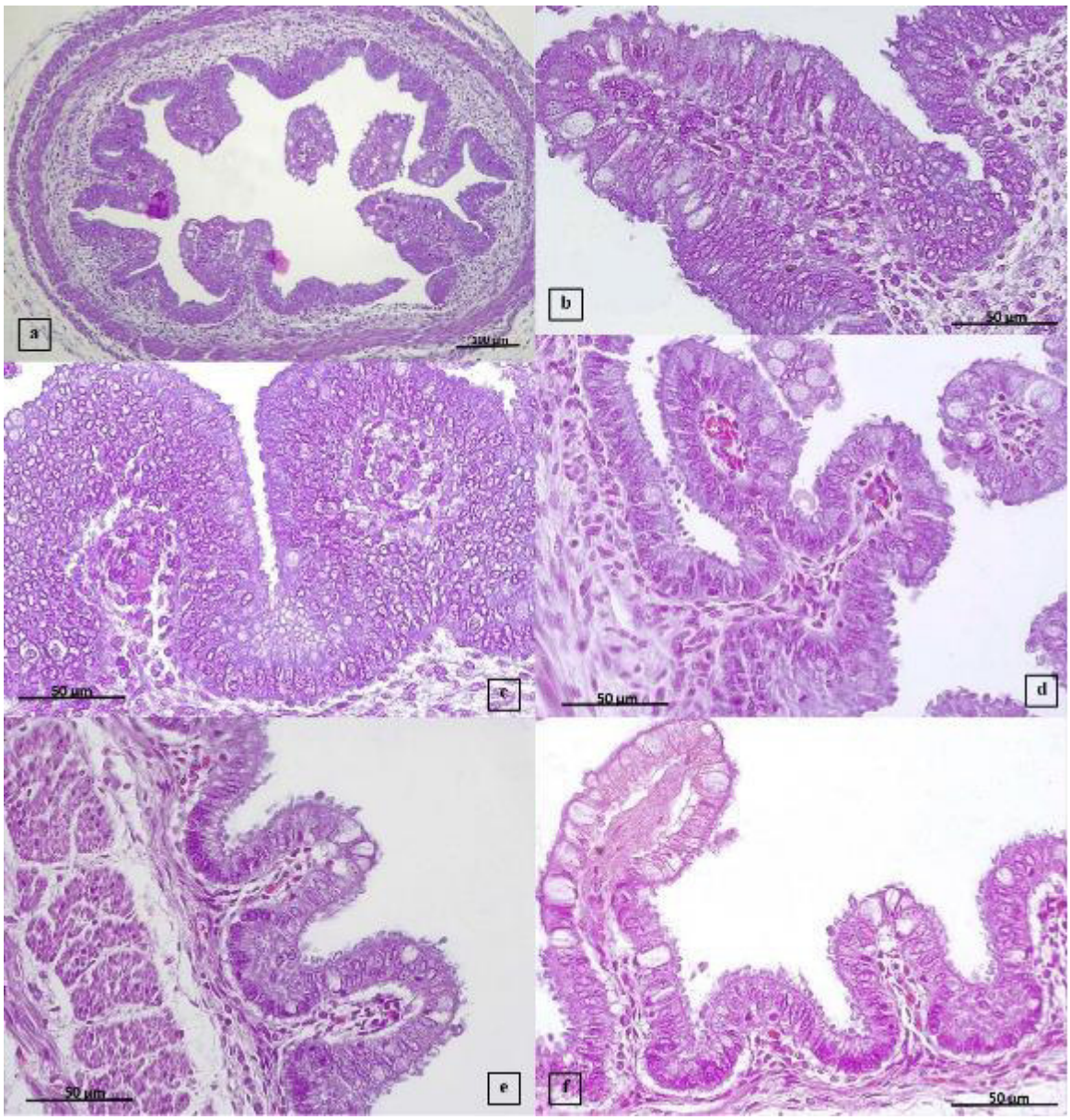


Figura 31: Colon transverso de fetos de alpaca de segundo tercio de gestación. a) 119 días, 10x. b), c) 119 días, 40x. d) 164 días, 40x. e), f) 121 días, 40x. Coloración H-E.

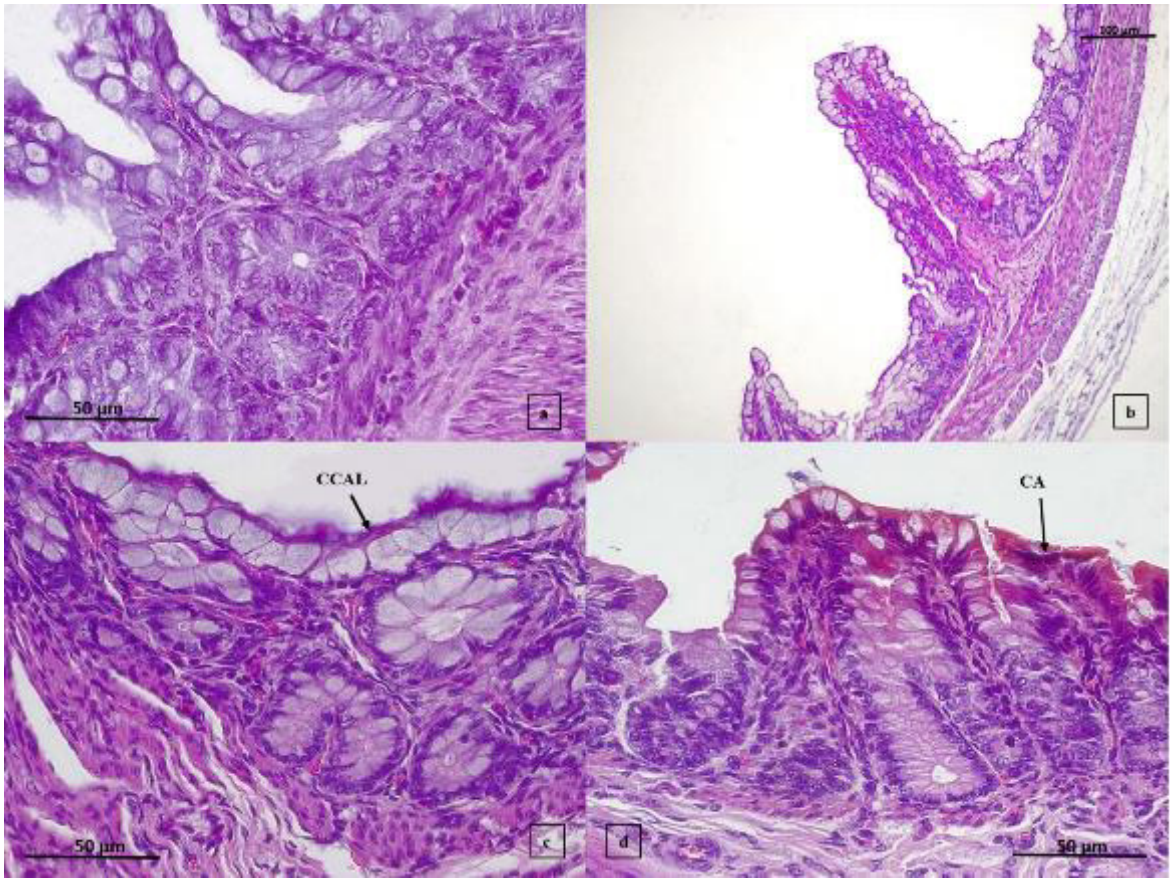


Figura 32: Colon transverso de fetos de alpaca de tercer tercio de gestación. a) 293 días, 40x. b) 317 días, 10x. c) 317 días, 40x. d) 334 días, 40x. CCAL: células caliciformes, CA: células en apoptosis. Coloración H-E.

4.3.2.2.4.2 Etapa postnatal

Durante los primeros días de vida posnatal continúa el proceso de muerte celular con pérdida de las vellosidades, las cuales desaparecen por completo al día 7. Las células en descamación y las CP típicas disminuyen conforme pasan los días. Al día 11, el epitelio se ha diferenciado y posee un aspecto que se mantiene hasta el animal adulto (Figura 33).

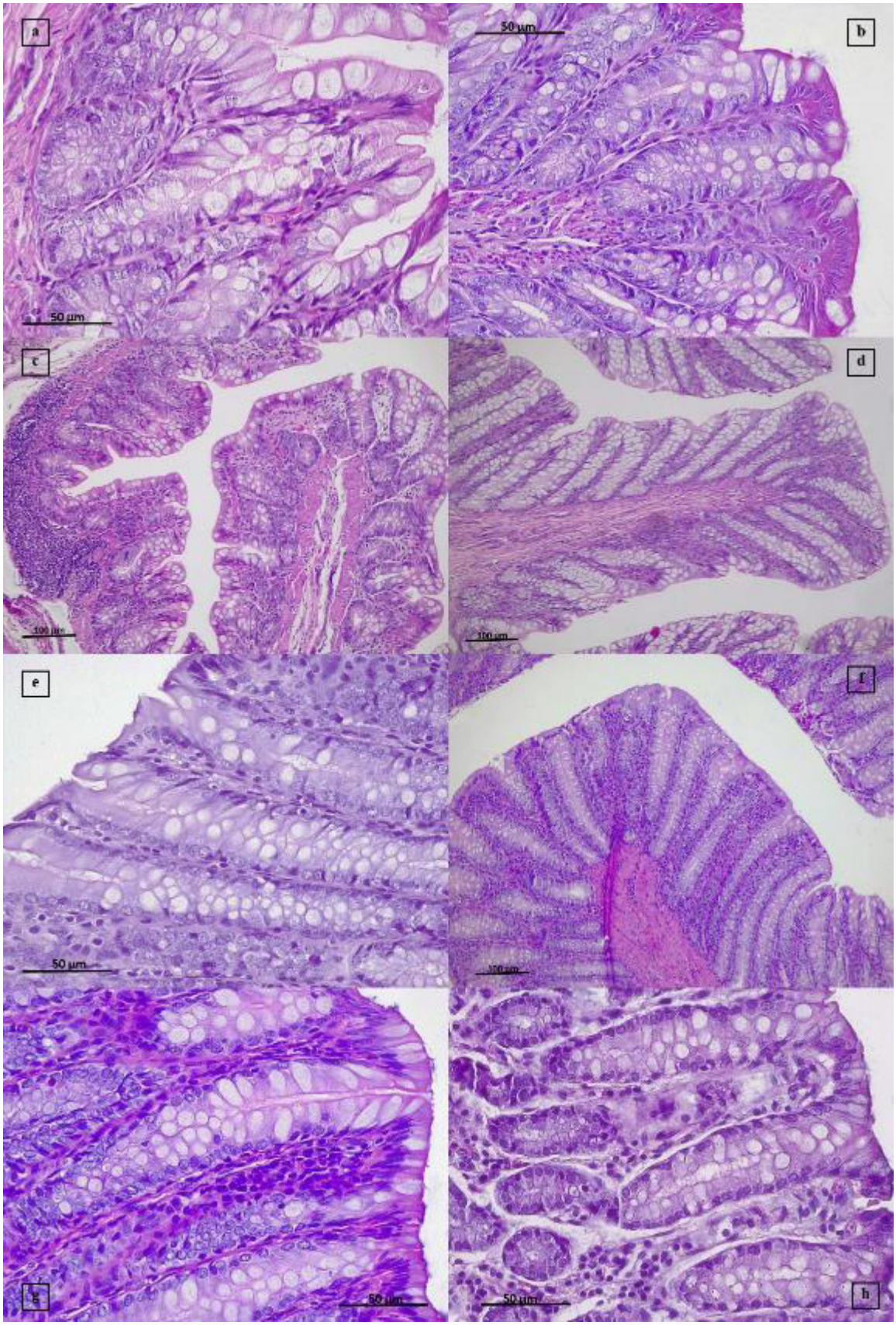


Figura 33: Colon transverso de alpacas. Crías: a), b) 1 día, 40x. c) 3 días, 10x. d) 7 días, 10x. e) 31 días, 40x. f) 35 días, 10x. g) 43 días, 40x. h) Adulto, 40x. Coloración H-E.

4.3.2.2.5 Colon Descendente

4.3.2.2.5.1 Etapa fetal

Primer tercio: A los 57 días la luz del órgano es muy estrecha. Se encuentra un epitelio cilíndrico estratificado, mesénquima y túnica muscular en diferenciación, sin que se diferencien con claridad las capas. Se reconocen algunas células epiteliales con el citoplasma sin colorear.

A los 80 días aparecen pliegues en la mucosa. El tejido mesenquimático comienza a diferenciarse hacia tejido conectivo y se observan las dos capas de la túnica muscular; el epitelio es cilíndrico simple hacia la punta de las evaginaciones y cilíndrico estratificado hacia la base y en el espacio entre ellas. Aparecen células con características típicas de CCAL y se puede observar chapa estriada. A los 103 días las vellosidades son más largas. La muscular de la mucosa comienza a desarrollarse y el tejido conectivo es más celular cerca del epitelio. El epitelio es similar al del estadío anterior (Figura 34).

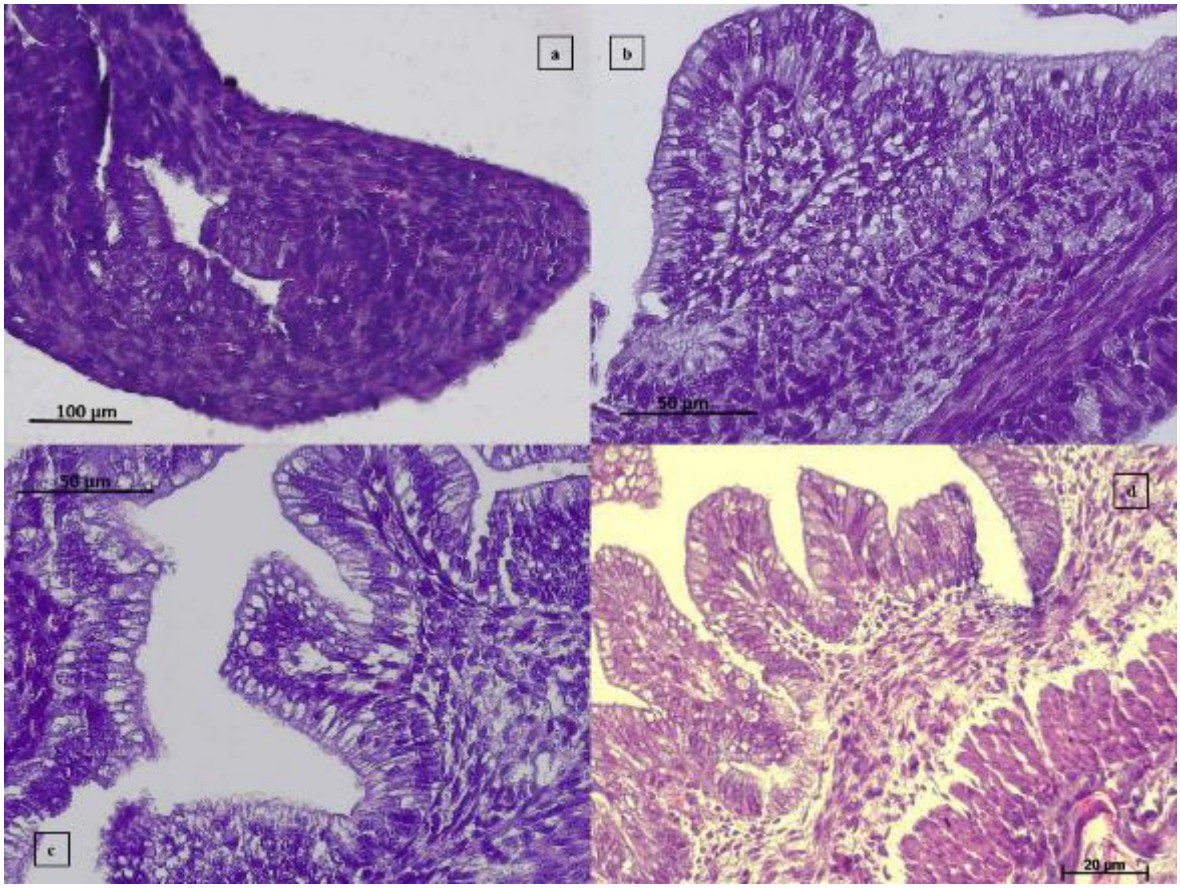


Figura 34: Colon descendente de fetos de alpaca de primer tercio de gestación. a) 57 días, 40x. b), c) 80 días, 40x. d) 103 días, 40x. Coloración H-E.

Segundo tercio: Entre los 117 y 129 días, las características son muy similares. El epitelio es cilíndrico simple en toda su extensión. Entre los días 141 y 164 días las evaginaciones son más largas y adquieren forma digitiforme. Comienzan a formarse invaginaciones del epitelio. Entre

los días 207 y 221 las invaginaciones toman aspecto de criptas y la muscular de la mucosa forma una capa continua; el número de CCAL aumenta (Figura 35).

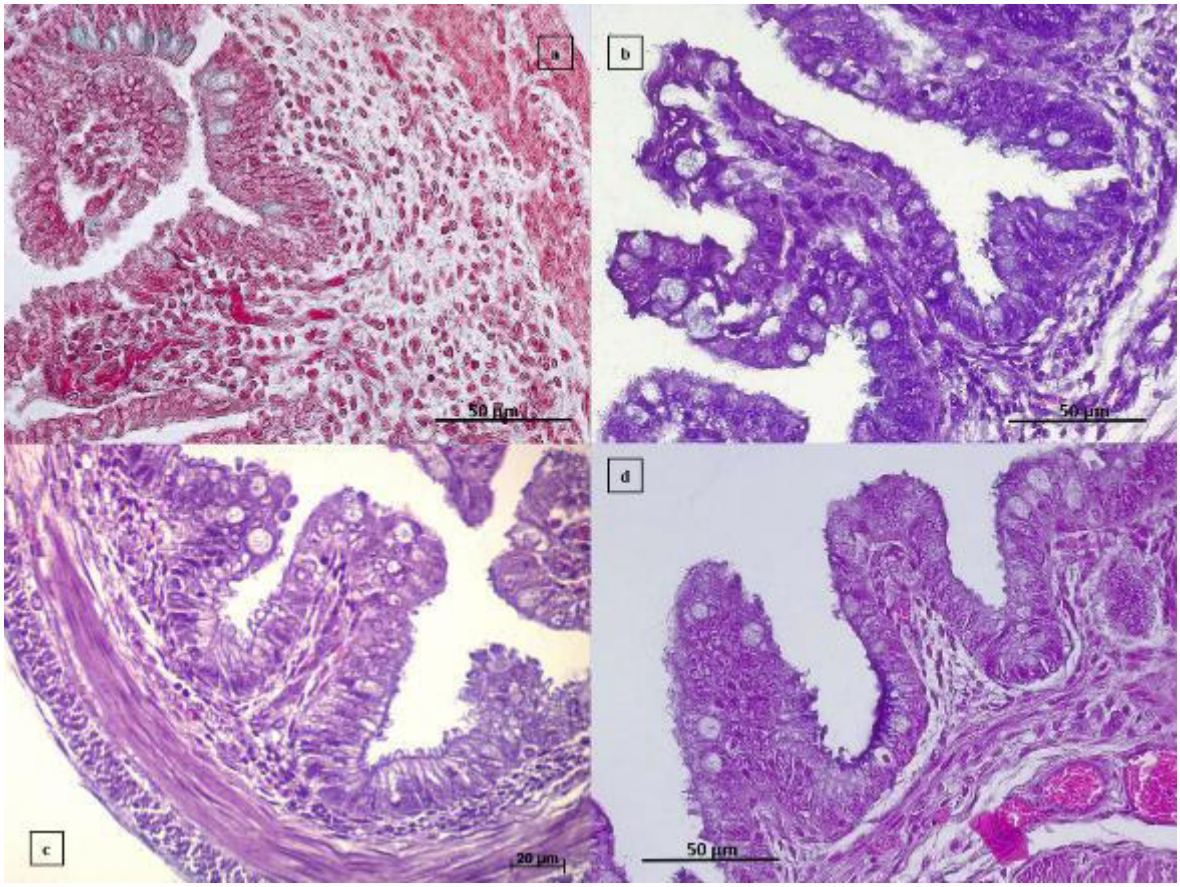


Figura 35: Colon descendente de fetos de alpaca de segundo tercio de gestación. a) 119 días, 40x. Coloración Tricrómico de Masson. b) 141 días, 40x. c) 145 días, 40x. d) 206 días, 40x. Coloración H-E.

Tercer tercio: A los 230 días el aspecto es similar al del final del segundo tercio. Al día 293, las vellosidades son más cortas y menos numerosas; las criptas son más profundas y numerosas que en el estadío previo. La muscular de la mucosa se ha engrosado. Algunas células superficiales tienen citoplasma acidófilo y núcleo condensado y se observa descamación celular. Entre los 317 a 340 días, las vellosidades casi han desaparecido y las criptas son más profundas y se incrementa el número de células de aspecto apoptótico (Figura 36).

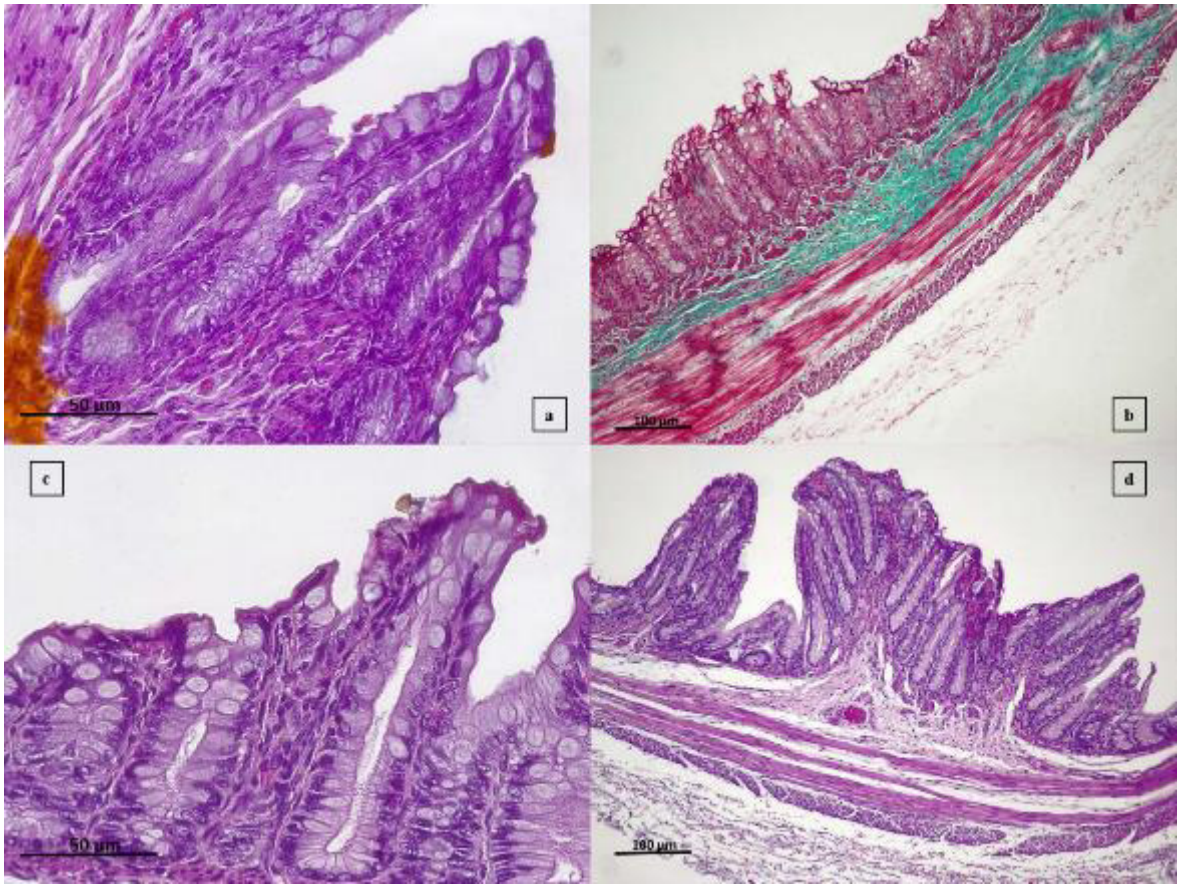


Figura 36: Colon descendente de fetos de alpaca de tercer tercio de gestación. a) 293 días, 40x. H-E. b) 325 días, 10x. Coloración Tricrómico de Masson. c) 334 días, 40x, H-E. d) 334 días, 10x, H-E.

4.3.2.2.5.2 Etapa postnatal

Durante los dos primeros días de vida posnatal (0-1) continúa el proceso de muerte celular con pérdida de vellosidades, culminando este proceso hacia el día 7. A partir del día 10 se observa un epitelio diferenciado, con características que se mantienen hasta la edad adulta (Figura 37).

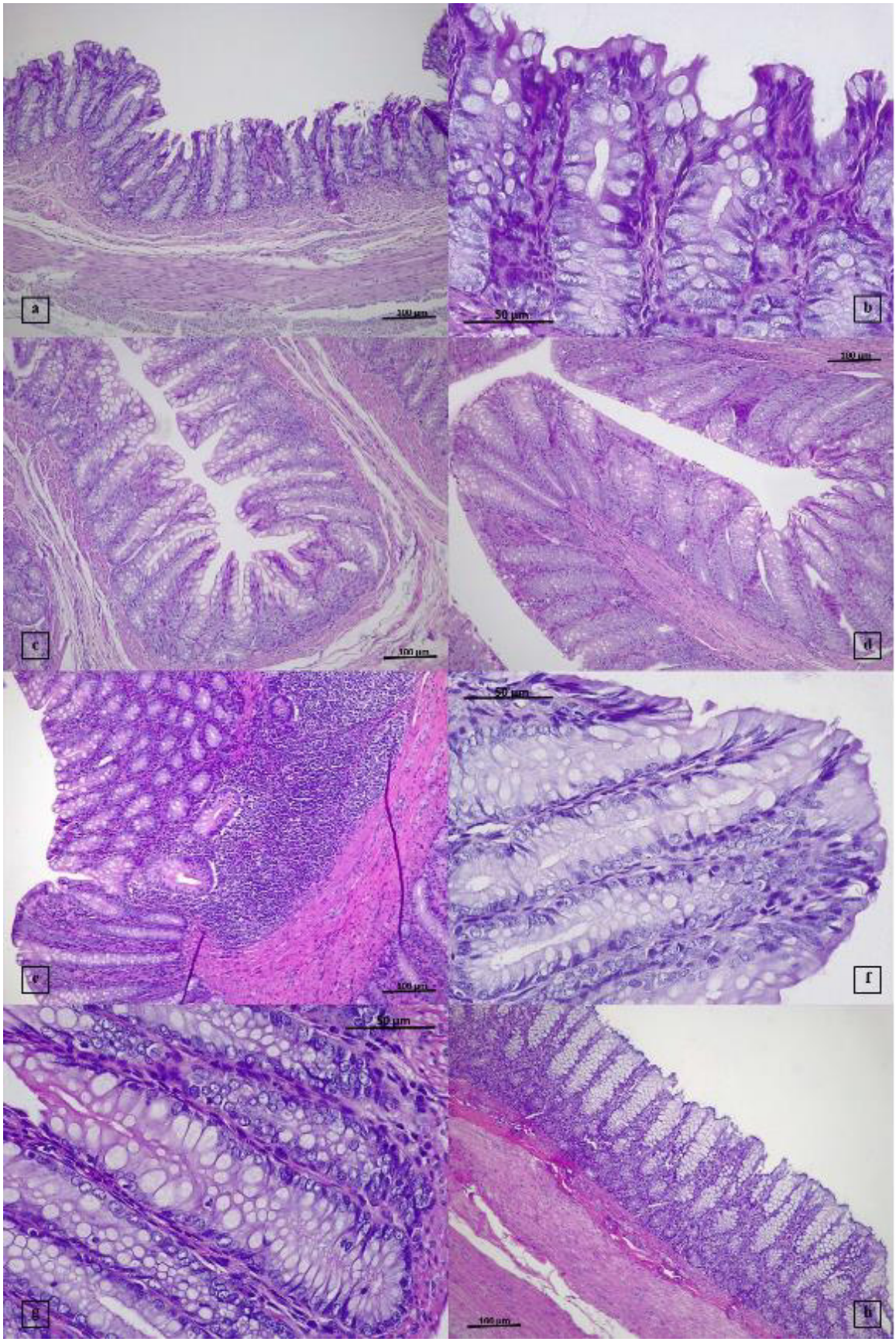


Figura 37: Colon descendente de alpacas. Crías: a) 1 día, 10x. b) 1 día, 40x. c) 2 días, 10x. d) 5 días, 10x. e) 35 días, 10x. f) 39 días, 40x. g) 45 días, 40x. h) Adulto, 10x. Coloración H-E.

4.3.3 Morfometría Intestinal

El desarrollo morfométrico del intestino sigue el mismo patrón del desarrollo morfológico y se divide en dos ejes intestino delgado e intestino grueso; en ambos casos el desarrollo va de craneal a caudal. En la etapa fetal, el estudio de criptas y vellosidades se realizó de acuerdo a la edad fetal y el desarrollo de la estructura en estudio.

4.3.3.1 Intestino Delgado

4.3.3.1.1 Pared intestinal

El desarrollo de la pared intestinal y la diferenciación de las diferentes túnicas se inician en el primer tercio de gestación, proceso que continúa hasta el último tercio. Conforme se van estructurando y diferenciando las túnicas se observa el incremento en el espesor de la pared intestinal. Conforme en la mucosa aparecen las vellosidades y criptas, y estas se alargan o se hacen más profundas, así como la aparición de glándulas de Brünner en la submucosa, la pared intestinal se hace más gruesa. En el primer tercio de gestación del duodeno es la más gruesa y la que tiene una estructura más similar a la adulta; mientras que en el íleon se observa la pared más delgada y menos diferenciada, esto se mantiene hasta el final de la gestación.

Al nacimiento, todas las porciones del intestino delgado tienen un espesor similar, luego aumentan progresivamente. En el caso del duodeno, el mayor grosor se observa hacia los 37 a 45 días, mientras que en yeyuno e íleon desde los 8 a 15 días de edad (Cuadro 13).

Cuadro 13: Espesor de pared intestinal (µm) del intestino delgado de alpacas.

Etapa	Edad	Duodeno X ± DS	Yeyuno X ± DS	Íleon X ± DS
Fetal	F1T	214.26 ± 78.7^{a,1}	160.55 ± 49.7^{a,b,1}	126.08 ± 144.6^{b,1}
	F2T	435.44 ± 128.1^{a,2}	381.95 ± 85.6^{b,2}	329.25 ± 118.3^{c,2}
	F3T	739.27 ± 191.6^{a,3}	685.59 ± 159.9^{a,b,3}	620.49 ± 216.5^{b,3}
Postnatal, días	0-7	1176.54 ± 345.9^{a,4}	1239.99 ± 378.1^{a,4,5}	1120.11 ± 384.9^{a,4}
	8-15	1329.90 ± 243.6^{a,4,5}	1320.62 ± 331.9^{a,4,5}	1547.96 ± 236.5^{b,5}
	16-21	1429.56 ± 204.9^{a,5,6}	1315.99 ± 200.9^{b,4,5}	1234.83 ± 150.4^{b,6}
	22-27	1604.55 ± 223.3^{a,6,7}	1127.03 ± 207.2^{b,4}	1282.32 ± 166.5^{b,6}
	28-36	1611.83 ± 302.9^{a,6,7}	1398.65 ± 235.7^{b,5}	1640.94 ± 206.9^{a,5}
	37-45	1675.52 ± 386.4^{a,7}	1371.79 ± 188.1^{b,5}	1620.18 ± 301.1^{a,5}
	Adultos	1205.09 ± 185.7^{a,4}	1348.27 ± 53.1^{a,b,5}	1474.60 ± 201.8^{b,5}

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2T: fetos de segundo tercio de gestación (111-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (330-340 días). X: media, DS: desvío estándar
^{a,b,c,d,e}: diferencias entre columnas (porciones intestinales), $p<0.05$
^{1,2,3,4}: diferencias entre filas (edades), $p<0.05$

4.3.3.1.2 Mucosa intestinal

La mucosa es la túnica interna de la pared intestinal, que se ubica hacia el lumen intestinal; está formada por el epitelio, la lámina propia y la muscular de la mucosa; la delimitación entre la mucosa y la submucosa se observa claramente a partir del tercer tercio de gestación, cuando la muscular de la mucosa se diferencia en toda la longitud del intestino. Las variaciones en el espesor de la mucosa dependen principalmente de la longitud de las vellosidades, de la profundidad de criptas y de la celularidad en la lámina propia. El estudio del espesor de la mucosa del intestino delgado se hizo desde el tercer tercio de gestación, momento en que el mayor espesor se observa en duodeno y el menor en íleon, esto comienza a cambiar hacia los 8 a 15 días cuando la mucosa no presenta diferencias entre las 3 porciones del intestino delgado, para luego incrementarse principalmente en yeyuno donde se observan valores superiores que se mantienen hasta la edad adulta (906.72 ± 71.8), mientras el menor valor se observa en íleon (586.39 ± 116.2) (Cuadro 14).

Cuadro 14: Espesor de la mucosa del (µm) intestino delgado de alpacas.

Etapa	Edad	Duodeno X ± DS	Yeyuno X ± DS	Íleon X ± DS
Fetal	F3T	505.89 ± 155.7^{a,1}	489.07 ± 157.6^{a,1}	396.83 ± 205.3^{b,1}
Postnatal, días	0-7	726.07 ± 203.0^{a,2,4}	742.79 ± 239.9^{a,2}	471.23 ± 178.8^{b,1,2}
	8-15	641.22 ± 127.5^{a,2,3}	759.56 ± 245.6^{a,2,3}	702.82 ± 168.1^{a,3,4}
	16-21	660.20 ± 161.1^{a,2,3}	779.52 ± 143.9^{b,2,3}	609.19 ± 123.3^{a,2,3,4}
	22-27	845.62 ± 196.4^{a,4}	689.94 ± 116.2^{b,2}	732.27 ± 172.3^{a,b,3,4,5}
	28-36	784.95 ± 181.4^{a,4,5}	734.48 ± 187.0^{a,2}	765.99 ± 178.9^{a,4,5}
	37-45	757.22 ± 175.2^{a,b,2,4,5}	689.11 ± 148.3^{a,2}	799.40 ± 237.0^{b,5}
	Adultos	607.92 ± 96.8^{a,1,3}	906.72 ± 71.8^{b,3}	586.39 ± 116.2^{a,2,3}

F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días). X: media, DS: desvío estándar
^{a,b,c,d,e}: diferencias entre columnas (porciones intestinales), $p<0.05$
^{1,2,3,4}: diferencias entre filas (edades), $p<0.05$

4.3.3.1.3 Morfometría de vellosidades y criptas de Lieberkühn

La diferenciación de la mucosa intestinal en el intestino delgado se inicia en el primer tercio de gestación en sentido cráneo caudal y continúa hasta la etapa postnatal temprana, la mucosa sufre los cambios más importantes, pasando de una mucosa sin vellosidades a una mucosa con vellosidades y criptas.

En el primer tercio de gestación se observa epitelio estratificado sin formación de vellosidades y criptas. La formación de vellosidades y criptas se inicia en el duodeno en

el segundo tercio de gestación, aproximadamente hacia los 164 días; mientras que en yeyuno e íleon se observó recién en el tercer tercio de gestación. Las criptas siguen un patrón de formación cráneo caudal similar a las vellosidades. La formación de las criptas se inicia a partir de la invaginación del epitelio el cual ocurre en duodeno hacia los 207 días de gestación, mientras que en las otras porciones del intestino delgado posterior a los 230 días de gestación.

En el duodeno, el número de vellosidades en el segundo tercio de gestación es de aproximadamente 10 vellosidades por mm de longitud de epitelio en duodeno y el número de criptas es de 11. En el tercer tercio de gestación, el número de vellosidades y criptas aumenta, observándose valores de 12 vellosidades (en todas las porciones) y entre 11 (íleon) y 14 criptas (duodeno) por mm de longitud de epitelio intestinal, este número es mayor al observado en la etapa postnatal cuando sufre una disminución en los primeros 45 días, para luego en la etapa adulta observarse valores similares al nacimiento (Cuadros 15 y 16).

La longitud de las vellosidades va en aumento desde la etapa prenatal hasta la postnatal, en el caso del duodeno pasa de 256.0 µm en el segundo tercio, hasta 684.25 µm entre los 22 y 27 días de edad, este valor disminuye hacia la edad adulta. En el caso de yeyuno pasa de 419.12 µm en el tercer tercio hasta 648.01 µm en la edad adulta. En el caso del íleon los valores van de 334 hasta 525.26 µm entre los 28 y 36 días, siendo duodeno y yeyuno donde se observan los valores superiores a comparación del íleon (Cuadro 17).

Estas vellosidades presentan un desarrollo no solo en longitud sino en ancho, y esto está relacionado principalmente al aumento de la celularidad dentro de lámina propia en la etapa postnatal temprana. En la etapa prenatal se observan vellosidades largas y delgadas mientras que en la etapa posnatal las vellosidades se hacen más largas pero más anchas, lo cual se refleja en el número de vellosidades. Entre porciones no se observan diferencias en el ancho, pero si se encuentran al comparar entre las distintas edades cada porción intestinal (Cuadro 17 y 18).

Las criptas de Lieberkühn en el intestino delgado aparecen en el duodeno durante la etapa final del segundo tercio de gestación y en el yeyuno e íleon durante el tercer tercio de gestación. Su desarrollo es posterior al de las vellosidades y en la etapa postnatal es donde se da el mayor desarrollo, con aumento de su profundidad. Las criptas más profundas se observan después de los 22 días de edad, en este momento son más profundas en el íleon principalmente, mientras que en los adultos las criptas más profundas se observan en el yeyuno (Cuadro 19).

El ancho de las criptas también aumenta desde la etapa prenatal hasta la postnatal, sin embargo en crías se observan valores mayores en comparación a los adultos, cuando los valores son similares a los encontrados en el último tercio de gestación (Cuadro 20). En adultos se observan criptas más delgadas pero profundas, lo que puede relacionarse con el mayor número de criptas observadas.

Cuadro 15: Número de vellosidades por mm de longitud en el intestino delgado de alpacas

Etapa	Edad	Duodeno X ± DS	Yeyuno X ± DS	Íleon X ± DS
Fetal	F1T	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}
	F2Ta	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}
	F2Tb	$10.10 \pm 2.7^{a,2}$	0.00 ± 0.0^{b1}	$0.00 \pm 0.0^{b,1}$
	F3T	$12.11 \pm 2.8^{a,3}$	$12.37 \pm 2.5^{a,2}$	$11.77 \pm 2.1^{a,2}$
Postnatal, días	0-7	$10.05 \pm 2.6^{a,2}$	$8.36 \pm 1.6^{b,3}$	$8.65 \pm 2.2^{b,3}$
	8-15	$6.44 \pm 1.6^{a,4}$	$6.77 \pm 1.4^{a,4}$	$6.52 \pm 1.4^{a,4}$
	16-21	$6.20 \pm 1.2^{a,4}$	$6.64 \pm 1.4^{a,4}$	$6.17 \pm 1.5^{a,4,5}$
	22-27	$6.00 \pm 1.2^{a,b,4}$	$6.13 \pm 1.0^{a,5}$	$5.27 \pm 1.0^{b,5,6}$
	28-36	$5.52 \pm 1.2^{a,4}$	$5.36 \pm 1.1^{a,b,5}$	$4.81 \pm 1.3^{b,6}$
	37-45	$5.52 \pm 1.1^{a,b,4}$	$5.67 \pm 1.0^{a,5}$	$5.04 \pm 1.4^{b,5,6}$
	Adultos	$10.09 \pm 1.7^{a,2}$	$9.09 \pm 1.8^{a,3}$	$7.04 \pm 1.9^{b,4}$

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días). X: media, DS: desvío estándar
^{a,b,c,d,e}: diferencias entre columnas (porciones intestinales), $p<0.05$
^{1,2,3,4}: diferencias entre filas (edades), $p<0.05$

Cuadro 16: Número de criptas por mm de longitud en el intestino delgado de alpacas.

Etapa	Edad	Duodeno X ± DS	Yeyuno X ± DS	Íleon X ± DS
Fetal	F1T	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}
	F2Ta	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}
	F2Tb	$11.71 \pm 3.0^{a,2}$	$0.00 \pm 0.0^{b,1}$	$0.00 \pm 0.0^{b,1}$
	F3T	$14.16 \pm 3,1^{a,3}$	$13.93 \pm 2.5^{a,2}$	$11.81 \pm 2.7^{b,2}$
Postnatal, días	0-7	$13.01 \pm 3.0^{a,2,3}$	$9.03 \pm 2.0^{b,3}$	$9.84 \pm 3.0^{b,3}$
	8-15	$8.26 \pm 2.4^{a,4}$	$7.59 \pm 1.9^{a,4}$	$7.24 \pm 1.6^{a,4,5}$
	16-21	$6.56 \pm 1.1^{a,5}$	$6.62 \pm 1.1^{a,4,5}$	$7.07 \pm 1.6^{a,4,5}$
	22-27	$6.48 \pm 1.1^{a,5}$	$6.28 \pm 0.9^{a,4,5}$	$5.93 \pm 0.9^{a,4,6}$
	28-36	$5.91 \pm 0.9^{a,5}$	$5.54 \pm 1.3^{a,5}$	$5.00 \pm 1.2^{b,6}$
	37-45	$6.14 \pm 1.1^{a,5}$	$5.68 \pm 1.5^{a,b,5}$	$5.22 \pm 1.3^{b,6}$
	Adultos	$13.74 \pm 2.2^{a,3}$	$11.75 \pm 1.9^{a,6}$	$7.78 \pm 1.5^{b,5}$

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-215 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (216-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días). X: media, DS: desvío estándar
^{a,b,c,d,e}: diferencias entre columnas (porciones intestinales), $p<0.05$
^{1,2,3,4}: diferencias entre filas (edades), $p<0.05$

Cuadro 17: Longitud de vellosidades (µm) en intestino delgado de alpacas.

Etapa	Edad	Duodeno X ± DS	Yeyuno X ± DS	Íleon X ± DS
Fetal	F1T	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]
	F2Ta	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]
	F2Tb	265.0 ± 76.25[a,2]	0.00 ± 0.0[b,1]	0.00 ± 0.0[b,1]
	F3T	440.46 ± 170.5[a,3]	419.12 ± 152.2[a,b,2]	334.28 ± 199.3[b,2]
Postnatal, días	0-7	595.84 ± 184.6[a,5,6]	622.12 ± 226.6[a,3]	343.64 ± 158.8[·b,2]
	8-15	462.26 ± 108.1[a,3,4]	581.61 ± 119.5[b,3]	526.15 ± 149.2[a,b,4,5]
	16-2	488.47 ± 157.3[a,3,4,5]	531.47 ± 123.9[b,3]	424.20 ± 117.8[a,2,3,4]
	22-27	684.25 ± 203.0[a,6]	534.16 ± 152.7[b,2,3]	488.18 ± 142.8[b,3,4,5]
	28-36	558.59 ± 158.9[a,4,5]	505.77 ± 134.2[a,2,3]	525.26 ± 147.9[a,4,5]
	37-45	512.04 ± 145.7[a,3,4,5]	626.20 ± 46.6[a,2,3]	553.70 ± 175.3[a,5]
	Adultos	402.19± 104.1[a,3]	648.01 ± 65.1[b,3]	394.30 ± 88.5[a,2,3]

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días). X: media, DS: desvío estándar

[a,b,c,d,e]: diferencias entre columnas (porciones intestinales), $p<0.05$

[1,2,3,4]: diferencias entre filas (edades), $p<0.05$

Cuadro 18: Ancho de vellosidades (µm) en intestino delgado de alpacas.

Etapa	Edad	Duodeno X ± DS	Yeyuno X ± DS	Íleon X ± DS
Fetal	F1T	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]
	F2Ta	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]
	F2Tb	72.68 ± 14.2[a,2]	0.00 ± 0.0[b,1]	0.00 ± 0.0[b,1]
	F3T	81.77 ± 20.0[a,2]	82.73 ± 17.4[a,2]	74.33 ± 17.6[a,2]
Postnatal, días	0-7	126.93 ± 28.2[a,3,4]	136.03 ± 33.6[a,3]	93.88 ± 23.6[b,2]
	8-15	149.29 ± 36.3[a,5,6]	137.99 ± 26.9[a,3]	147.69 ± 32.5[a,3,4,5]
	16-21	138.31 ± 25.2[a,4,5]	156.69 ± 29.6[b,3,4]	133.72 ± 29.7[a,3]
	22-27	164.34 ± 37.8[a,6]	163.18 ± 25.6[a,b,4]	141.87 ± 26.0[a,3,4]
	28-36	152.44 ± 35.4[a,5,6]	166.77 ± 39.1[a,4]	154.58 ± 34.4[a,4,5]
	37-45	159.79 ± 33.7[a,6]	163.15 ± 38.9[a,4]	165.70 ± 35.4[a,5]
	Adultos	109.16 ± 18.4[a,3]	93.92 ± 16.2[b,2]	86.66 ± 20.8[b,2]

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días). X: media, DS: desvío estándar

[a,b,c,d,e]: diferencias entre columnas (porciones intestinales), $p<0.05$

[1,2,3,4]: diferencias entre filas (edades), $p<0.05$

Cuadro 19: Longitud de criptas Lieberkhün (µm) en intestino delgado de alpacas.

Etapa	Edad	Duodeno X ± DS	Yeyuno X ± DS	Íleo X ± DS
Fetal	F1T	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]
	F2Ta	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]
	F2Tb	91.31 ± 43.31[a,2,3]	0.00 ± 0.0[b,1]	0.00 ± 0.0[b,1]
	F3T	75.83 ± 36.3[a,2]	70.23 ± 27.6[a,2]	64.37 ± 19.0[a,2]
Postnatal, días	0-7	131.77 ± 54.7[a,3,4]	113.40 ± 38.4[a,2]	124.73 ± 48.9[a,3]
	8-15	172.38 ± 51.6[a,4,5,6]	166.53 ± 76.5[a,3]	183.24 ± 61.1[a,4]
	16-21	174.86 ± 49.5[a,4,5,6]	197.82 ± 67.9[a,3,4]	186.37 ± 63.2[a,4,5]
	22-27	167.02 ± 55.1[a,4,5]	170.86 ± 51.5[a,3]	236.40 ± 72.1[b,5,6]
	28-36	224.71 ± 104.8[a,6,7]	195.91 ± 96.6[a,3,4]	237.39 ± 100.6[a,6]
	37-45	245.16 ± 113.5[a,7]	194.29 ± 57.8[b,3,4]	243.93 ± 97.7[a,6]
	Adultos	206.79 ± 60.2[a,5,6,7]	237.94 ± 68.4[a,4]	182.47 ± 61.3[a,4]

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-215 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (216-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días). X: media, DS: desvío estándar

[a,b,c,d,e]: diferencias entre columnas (porciones intestinales), $p<0.05$

[1,2,3,4]: diferencias entre filas (edades), $p<0.05$

Cuadro 20: Ancho de criptas (µm) en intestino delgado de alpacas.

Etapa	Edad	Duodeno X ± DS	Yeyuno X ± DS	Íleon X ± DS
Fetal	F1T	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]
	F2Ta	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]
	F2Tb	56.47 ± 14.1[a,2]	0.00 ± 0.0[b,1]	0.00 ± 0.0[b,1]
	F3T	43.52 ± 7.5[a,3]	43.79 ± 12.2[a,2]	47.86 ± 8.6[a,2]
Postnatal, días	0-7	76.70 ± 16.4[a,4,5]	76.59 ± 19.1[a,3,4]	61.94 ± 21.8[b,3]
	8-15	68.86 ± 15.3[a,4,5]	84.17 ± 15.4[a,4]	76.47 ± 16.3[a,b,4,5]
	16-21	69.28 ± 16.5[a,4,5]	86.32 ± 18.6[b,4]	71.96 ± 15.6[a,3,4]
	22-27	77.03 ± 25.9[a,4,5]	71.38 ± 15.5[a,3]	84.24 ± 17.8[a,5]
	28-36	68.14 ± 10.5[a,4]	78.72 ± 17.9[b,3,4]	76.91 ± 20.6[b,4,5]
	37-45	79.19 ± 15.5[a,4,5]	75.97 ± 14.4[a,3,4]	78.02 ± 15.4[a,4,5]
	Adultos	51.68 ± 11.9[a,2,3]	49.24 ± 4.4[a,2]	49.29 ± 5.8[a,2]

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-215 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (216-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días). X: media, DS: desvío estándar

[a,b,c,d,e]: diferencias entre columnas (porciones intestinales), $p<0.05$

[1,2,3,4]: diferencias entre filas (edades), $p<0.05$

4.3.3.2 Intestino grueso

El intestino grueso sigue un desarrollo de craneal a caudal y de caudal a craneal, el colon transverso es la última porción en desarrollarse y el ciego sigue su propio eje de desarrollo de craneal a caudal. El desarrollo morfométrico del intestino grueso es similar al intestino delgado, su desarrollo depende de las diferentes túnicas, siendo la mucosa la que sufre los mayores cambios.

4.3.3.2.1 Pared intestinal

En todas las porciones intestinales, el desarrollo se inicia en el primer tercio de gestación y sigue hasta la etapa postnatal, cuando se dan los mayores cambios en el espesor de la pared, los valores van en aumento y son máximos en la etapa adulta. En la etapa prenatal, todas las porciones presentan valores similares, mientras que, en la etapa postnatal, los mayores valores se observan en ciego y colon ascendente (superiores a las 1400 µm), mientras que en colon transverso y descendente los valores son de 900 µm aproximadamente (Cuadro 21).

Cuadro 21: Espesor de la pared (µm) del intestino grueso de alpacas.

Etapa	Edad	Ciego X ± DS	Colon Ascendente X ± DS	Colon Transverso X ± DS	Colon Descendente X ± DS
Fetal	F1T	186.05 ± 70.1^{a,1}	189.07 ± 84.1^{a,1}	147.22 ± 135.9^{a,1}	185.63 ± 155.3^{a,1}
	F2T	340.74 ± 175.8^{a,2}	397.43 ± 134.7^{b,2}	259.68 ± 101.4^{c,2}	304.95 ± 118.5^{a,1,2}
	F3T	290.09 ± 58.9^{a,1,2}	464.67 ± 152.7^{b,2}	407.03 ± 105.5^{c,3}	448.77 ± 134.4^{b,c,2}
Postnatal, días	0-7	772.08 ± 140.0^{a,3}	681.00 ± 150.2^{b,c,3}	605.80 ± 146.2^{c,4}	751.08 ± 252.9^{a,b3,4,5}
	8-15	1001.20 ± 269.0^{a,4}	840.92 ± 177.9^{b,4}	754.30 ± 166.0^{b,5,6}	728.82 ± 215.7^{b,3,4}
	16-21	887.20 ± 285.7^{a,3,4}	1024.61 ± 377.6^{a,5}	648.34 ± 83.5^{b,4,5}	670.50 ± 124.3^{b,3}
	22-27	1221.61 ± 393.7^{a,5}	852.27 ± 56.2^{b,4}	677.82 ± 157.4^{b,4,5,6}	895.38 ± 275.3^{a,b,4,5,6}
	28-36	1175.33 ± 268.1^{a,5}	820.45 ± 143.7^{b,3,4}	733.59 ± 172.9^{b,c,5,6}	659.43 ± 130.8^{c,3}
	37-45	1253.57 ± 409.7^{a,5}	821.87 ± 314.6^{b,3,4}	773.41 ± 103.3^{b,6}	912.31 ± 307.5^{b,5,6}
	Adultos	1479.75 ± 256.8^{a,6}	1487.61 ± 327.6^{a,6}	903.32 ± 144.4^{b,7}	975.11 ± 190.7^{b,6}

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2T: fetos de segundo tercio de gestación (111-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días). X: media, DS: desvío estándar
^{a,b,c,d,e}: diferencias entre columnas (porciones intestinales), $p<0.05$
^{1,2,3,4}: diferencias entre filas (edades), $p<0.05$

4.3.3.2.2 Mucosa intestinal

La mucosa del intestino grueso se puede diferenciar claramente a partir del tercer tercio de gestación, en esa edad la muscular de la mucosa se observa de forma continua en toda la extensión del intestino grueso. El mayor espesor de la mucosa en la etapa fetal y en adultos se observa en colon descendente mientras que los valores menores se observan en ciego. Durante la etapa postnatal temprana el espesor de la mucosa es similar en todas las porciones (Cuadro 22).

Cuadro 22: Espesor de la mucosa (µm) del intestino grueso de alpacas.

Etapa	Edad	Ciego X ± DS	Colon Ascendente X ± DS	Colon Transverso X ± DS	Colon Descendente X ± DS
Fetal	F3T	108.51 ± 22.0^{a,1}	160.25 ± 74.8^{b,1}	176.79 ± 53.3^{b,c,1}	191.21 ± 57.3^{c,1}
Postnatal, días	0-7	258.34 ± 44.3^{a,2}	222.83 ± 55.9^{b,2}	233.82 ± 60.8^{a,b,1,2}	244.44 ± 65.3^{a,b,1,2,3}
	8-15	329.79 ± 65.2^{a,3}	359.74 ± 55.9^{a,3}	266.03 ± 94.7^{b,2,3}	237.14 ± 66.7^{b,1,3}
	16-21	320.16 ± 53.1^{a,3}	344.51 ± 81.6^{a,3,4}	313.87 ± 66.8^{a,3}	308.95 ± 69.5^{a,2,4}
	22-27	322.26 ± 49.8^{a,3}	303.36 ± 23.9^{a,4}	273.29 ± 61.3^{a,2,3}	302.60 ± 69.0^{a,2,3,4}
	28-36	344.06 ± 35.7^{a,3}	305.43 ± 58.3^{b,3,4}	289.99 ± 67.2^{b,2,3}	276.47 ± 66.9^{b,2,3}
	37-45	319.33 ± 98.3^{a,3}	349.22 ± 113.4^{a,3,4}	322.90 ± 97.7^{a,3}	292.05 ± 66.4^{a,2,3,4}
	Adulto	204.71 ± 34.8^{a,4}	211.42 ± 46.5^{a,1,2}	295.88 ± 40.9^{b,2,3}	353.76 ± 94.8^{c,4}

F3T: fetos de tercer tercio de gestación. X: media, DS: desvío estándar
^{a,b,c,d,e}: diferencias entre columnas (porciones intestinales), $p<0.05$
^{1,2,3,4}: diferencias entre filas (edades), $p<0.05$

4.3.3.2.3 Morfometría de vellosidades y criptas de Lieberkühn

Durante el desarrollo fetal, a partir del final del segundo tercio de gestación, se pueden observar vellosidades y criptas en ciego (207 días), colon ascendente (216 días) y colon descendente (221 días), mientras que en colon transverso recién aparecen en el tercer tercio de gestación (después de los 230 días) (Cuadros 23 y 24). Las vellosidades que aparecen en esta etapa hacia el final del segundo tercio y llegan a desarrollarse en su máximo número hacia el tercer tercio, empiezan a desaparecer hacia el final del tercer tercio, concluyendo este proceso en los primeros 7 días post nacimiento, y luego no se vuelven a observar vellosidades (Cuadro 23). En cambio, el número de criptas, aumenta con la edad, observándose el mayor número en la etapa adulta, especialmente en el colon descendente donde el número es alrededor de 21 criptas por Lieberkühn µm de longitud (Cuadro 24).

Las vellosidades en el intestino grueso tienen su mayor tamaño entre el segundo tercio de gestación, teniendo longitudes de entre 150 a 242 µm de longitud y anchos de 74 a 87 µm aproximadamente, siendo en el colon ascendente donde se observan las de mayor tamaño y ancho, sin embargo, estas desaparecen por completo en todo el colon después de los 7 días de edad (Cuadros 25 y 26).

Cuadro 23: Número de vellosidades por mm de longitud en intestino grueso de alpacas.

Etapa	Edad, días	Ciego X ± DS	Colon Ascendente X ± DS	Colon Transverso X ± DS	Colon Descendente X ± DS
Fetal	F1T	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}
	F2Ta	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}
	F2Tb	$7.19 \pm 2.1^{a,2}$	$5.79 \pm 1.4^{b,2}$	$0.00 \pm 0.0^{c,1}$	$7.81 \pm 2.1^{b,c,2}$
	F3T	$7.67 \pm 1.9^{a,2}$	$8.52 \pm 1.9^{a,3}$	$8.26 \pm 3.5^{a,2}$	$8.89 \pm 2.6^{a,2}$
Postnatal, días	0-7	$4.51 \pm 5.0^{a,3}$	$2.47 \pm 4.1^{a,4}$	$3.48 \pm 4.0^{a,3}$	$4.28 \pm 4.9^{a,3}$
	8-15	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}
	16-21	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}
	22-27	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}
	28-36	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}
	37-45	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}
	Adulto	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-206 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (207-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días). X: media, DS: desvío estándar

^{a,b,c,d,e}: diferencias entre columnas (porciones intestinales), $p<0.05$

^{1,2,3,4}: diferencias entre filas (edades), $p<0.05$

Cuadro 24: Número de criptas por mm de longitud en intestino grueso de alpacas.

Etapa	Edad	Ciego X ± DS	Colon Ascendente X ± DS	Colon Transverso X ± DS	Colon Descendente X ± DS
Fetal	F1T	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}
	F2Ta	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}	0.00 ± 0.0^{1}
	F2Tb	$9.36 \pm 2.1^{a,2}$	$9.09 \pm 1.1^{a,2}$	$0.00 \pm 0.0^{c,1}$	$10.95 \pm 2.5^{b,c,2}$
	F3T	$12.19 \pm 1.9^{a,3}$	$13.61 \pm 2.3^{a,b,3}$	$14.73 \pm 3.4^{b,c,2,3}$	$15.84 \pm 2.5^{c,4,5}$
Postnatal, días	0-7	$15.99 \pm 2.7^{a,c,4}$	$15.13 \pm 2.2^{a,b,3,4,5}$	$14.02 \pm 2.4^{b,2,3}$	$16.64 \pm 4.3^{c,5}$
	8-15	$15.20 \pm 2.9^{a,4}$	$14.97 \pm 2.8^{a,3,4,5}$	$15.33 \pm 2.5^{a,3,4}$	$13.65 \pm 1.9^{a,2,3,4,5}$
	16-21	$15.27 \pm 6.0^{a,4}$	$14.11 \pm 3.3^{a,3,4}$	$13.29 \pm 2.7^{a,2}$	$12.97 \pm 2.3^{a,2,34}$
	22-27	$13.96 \pm 2.2^{a,c,3,4,5}$	$16.94 \pm 2.8^{b,5}$	$15.63 \pm 1.8^{b,c,3,4}$	$12.69 \pm 2.1^{a,2,3}$
	28-36	$13.04 \pm 2.1^{a,3,5}$	$14.20 \pm 2.6^{a,b,3,4}$	$16.86 \pm 3.7^{c,4}$	$15.21 \pm 2.9^{b,c,3,4,5}$
	37-45	$14.49 \pm 4.9^{a,4,5}$	$14.13 \pm 2.5^{a,3,4}$	$15.09 \pm 2.7^{a,2,3,4}$	$14.73 \pm 4.4^{a,3,4,5}$
	Adultos	$15.86 \pm 3.2^{a,4}$	$16.04 \pm 2.2^{a,4,5}$	$15.64 \pm 3.4^{a,3,4}$	$21.22 \pm 3.1^{b,6}$

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-206 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (207-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días). X: media, DS: desvío estándar

^{a,b,c,d,e}: diferencias entre columnas (porciones intestinales), $p<0.05$

^{1,2,3,4}: diferencias entre filas (edades), $p<0.05$

Cuadro 25: Longitud de vellosidades (µm) en intestino grueso de alpacas.

Etapa	Edad	Ciego X ± DS	Colon Ascendente X ± DS	Colon Transverso X ± DS	Colon Descendente X ± DS
Fetal	F1T	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]
	F2Ta	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]
	F2Tb	193.82 ± 103.4[a,2]	242.5 ± 63.0[b,2]	0.00 ± 0.0[c,1]	150.64 ± 32.3[d,2]
	F3T	42.63 ± 13.6[a,3]	69.91 ± 39.5[b,3]	44.65 ± 42.9[a,2]	42.66 ± 44.2[a,3]
Postnatal, días	0-7	28.67 ± 32.8[a,3]	23.18 ± 33.8[a,b,4]	13.25 ± 21.3[b,3]	23.95 ± 28.7[a,b,3]
	8-15	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]
	16-21	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]
	22-27	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]
	28-36	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]
	37-45	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]
	Adultos	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-206 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (207-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días). X: media, DS: desvío estándar

[a,b,c,d,e]: diferencias entre columnas (porciones intestinales), $p<0.05$

[1,2,3,4]: diferencias entre filas (edades), $p<0.05$

Cuadro 26: Ancho de vellosidades (µm) en intestino grueso de alpacas.

Etapa	Edad	Ciego X ± DS	Colon Ascendente X ± DS	Colon Transverso X ± DS	Colon Descendente X ± DS
Fetal	F1T	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]
	F2Ta	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]
	F2Tb	74.73 ± 16.1[a,2]	87.78± 13.4[b,2]	0.00 ± 0.0[c,1]	83.64 ± 15.6[b,2]
	F3T	66.88 ± 13.9[a,2]	66.14 ± 16.6[a,3]	61.28 ± 15.8[a,b,2]	54.46 ± 15.6[b,3]
Postnatal, días	0-7	30.20 ± 31.7[a,3]	22.77 ± 32.7[a,4]	30.92 ± 33.1[a,3]	24.83 ± 26.8[a,4]
	8-15	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]
	16-21	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]
	22-27	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]
	28-36	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]
	37-45	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]
	Adulto	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-206 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (207-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días). X: media, DS: desvío estándar

[a,b,c,d,e]: diferencias entre columnas (porciones intestinales), $p<0.05$

[1,2,3,4]: diferencias entre filas (edades), $p<0.05$

Las criptas colónicas se desarrollan desde la etapa prenatal y continúan en la etapa postnatal, las criptas de mayor longitud y mayor ancho se observan en el colon descendente de las alpacas adultas, mientras que en el ciego y el colon ascendente se logra el mayor tamaño (longitud y ancho) en crías a partir de los 8 días de edad y en colon transverso en crías a partir de los 16 días

de edad, estos valores cambian en adultos que poseen valores similares a los hallados en el nacimiento (Cuadros 27 y 28).

Cuadro 27: Longitud de criptas (µm) en intestino grueso de alpacas.

Etapa	Edad	Ciego X ± DS	Colon Ascendente X ± DS	Colon Transverso X ± DS	Colon Descendente X ± DS
Fetal	F1T	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]
	F2Ta	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]
	F2Tb	71.40 ± 20.4[a,2]	71.91 ± 15.3[a,2]	0.00 ± 0.0[b,1]	71.5 ± 17.7[a,2]
	F3T	65.88 ± 22.2[a,2]	90.34 ± 41.7[b,2]	132.14 ± 37.5[c,2]	148.55 ± 33.0[d,3]
Postnatal, días	0-7	229.67 ± 53.4[a,3]	199.65 ± 73.1[a,3]	220.57 ± 71.7[a,3]	220.50 ± 69.9[a,4]
	8-15	329.79 ± 65.2[a,4]	359.74 ± 55.9[a,5]	266.03 ± 94.7[b,4]	237.14 ± 66.7[b,4,5]
	16-21	320.16 ± 53.1[a,4]	344.51 ± 81.7[a,4,5]	313.87 ± 66.8[a,5,6]	308.95 ± 69.5[a,6,7]
	22-27	322.26 ± 49.8[a,4]	303.36 ± 23.9[a,4]	273.29 ± 61.3[a,4,5]	302.60 ± 69.0[a,6,7]
	28-36	344.06 ± 35.7[a,4]	305.43 ± 58.3[b,4]	289.99 ± 67.2[b,4,5,6]	276.47 ± 66.9[b,4,5,6]
	37-45	319.33 ± 98.3[a,4]	349.22 ± 113.4[a,4,5]	322.90 ± 97.7[a,6]	292.05 ± 66.4[a,5,6,7]
	Adultos	204.71 ± 34.8[a,3]	211.42 ± 46.5[a,3]	295.88 ± 40.9[b,4,5,6]	345.25 ± 88.3[c,7]

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-206 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (207-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días). X: media, DS: desvío estándar

[a,b,c,d,e]: diferencias entre columnas (porciones intestinales), $p<0.05$

[1,2,3,4]: diferencias entre filas (edades), $p<0.05$

Cuadro 28: Ancho de criptas (µm) del intestino grueso de alpacas.

Etapa	Edad	Ciego X ± DS	Colon Ascendente X ± DS	Colon Transverso X ± DS	Colon Descendente X ± DS
Fetal	F1T	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]
	F2Ta	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]	0.00 ± 0.0[1]
	F2Tb	70.27 ± 14.4[a,2]	69.94 ± 10.7[a,2]	0.00 ± 0.0[b,1]	66.30 ± 7.2[a,c,2]
	F3T	55.86 ± 12.7[a,b,3]	50.56 ± 9.2[a,3]	57.94 ± 10.9[b,2,3]	52.98 ± 11.4[a,b,3,4]
Postnatal, días	0-7	48.57 ± 9.6[a,4]	61.20 ± 12.4[b,2,4]	59.63 ± 11.8[b,2,3]	53.06 ± 8.8[a,2,3]
	8-15	56.88 ± 10.8[a,3,5]	64.60 ± 10.9[b,2]	53.60 ± 10.6[a,2]	69.35 ± 11.6[b,2]
	16-21	61.26 ± 14.3[a,3,5]	65.11 ± 17.9[a,2]	58.39 ± 9.9[a,2,3]	63.52 ± 9.4[a,2,3]
	22-27	62.78 ± 9.4[a,b,5]	54.05 ± 9.4[a,3,4]	60.42 ± 6.2[a,3,4]	72.04 ± 7.6[b,2]
	28-36	61.34 ± 11.1[a,3,5]	52.79 ± 7.3[b,3,4]	56.63 ± 6.8[a,b,2,3]	50.71 ± 18.6[b,4]
	37-45	59.46 ± 10.6[a,3,5]	66.89 ± 15.0[b,2]	66.62 ± 11.2[a,b,4]	67.77 ± 12.1[b,2]
	Adultos	44.94 ± 7.5[a,4]	40.88 ± 7.2[a,5]	45.34 ± 8.3[a,5]	65.96 ± 12.0[b,2]

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-206 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (207-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días). X: media, DS: desvío estándar

[a,b,c,d,e]: diferencias entre columnas (porciones intestinales), $p<0.05$

[1,2,3,4]: diferencias entre filas (edades), $p<0.05$

V. CAPÍTULO II: DETERMINACIÓN DE LOS PROCESOS DE DIFERENCIACIÓN Y MADURACIÓN DEL EPITELIO INTESTINAL.

5.1. OBJETIVO

Determinar los procesos de diferenciación y maduración del epitelio intestinal de la alpaca.

5.2. METODOLOGÍA

Para cumplir estos objetivos se utilizaron diferentes técnicas histológicas, histoquímicas y de inmunohistoquímica dependiendo del tipo celular.

5.2.1 Enterocitos

Para realizar el estudio de células absortivas en el epitelio se utilizaron láminas coloreadas con H-E, se utilizaron las láminas que se usaron para el estudio morfológico y morfométrico. La lectura de las láminas se realizó con un microscopio Leica DM 4B (Leica, Alemania), oculares HC Plan S de gran campo 10x/22 M, objetivos N Plan 5x/0.12, N Plan 10x/0.25 PH1, HC PL Fluotar 40x/0.80 PH2, N Plan 63x/0.80 y HC PL APO 100x/1.40 PH3. Las imágenes fueron captadas con la cámara DFC7000 T (Leica, Alemania), almacenadas y procesadas mediante el programa LAS V4.12 (Leica, Alemania) instalado en una computadora portátil Intel core i7 de 7ma generación (Inspiron 14 7000, marca Dell); las imágenes se tomaron en formato TIFF.

La determinación del tiempo de maduración de los enterocitos se realizó mediante la identificación de transportadores de glucosa (SGLT-1 y GLUT-2) en el epitelio intestinal, mediante inmunohistoquímica; este estudio se realizó en epitelio de intestino delgado, no se incluyó intestino grueso debido a que la presencia de transportadores de glucosa se expresa principalmente en intestino delgado. Para lo cual se utilizaron tejidos montados en láminas preparadas con Poly-L-lisina (P8920, Sigma-Aldrich, USA), siguiendo protocolos establecidos para esta técnica (Cuadro 10). El sistema de amplificación y revelado usado fue el Kit rabbit ABC

staining system (sc-2018 Santa Cruz Biotechnology, USA) (Taylor *et al*., 1996; Anglas *et al.,* 2012).

Se utilizaron los siguientes anticuerpos:

SGLT-1: (07-1417, Millipore, USA), anticuerpo policlonal de conejo, obtenido de SGLT-1 de intestino delgado de ratón-conejo, diluido a una concentración de 1:50 (Hwang *et al*., 1991; Anglas *et al.,* 2012).

GLUT-2: (H-67) (sc-9117, Santa Cruz Biotechnology, USA), anticuerpo policlonal de conejo obtenido de los aminoácidos del 32 al 98 del GLUT de origen humano, diluido a una concentración de 1:50 (Eisenberg *et al*., 2005; Kellett *et al*., 2008; Yang *et al*., 2011, Anglas *et al*., 2012).

En ambos casos se utilizaron yeyuno de ratón, rata y cobayo como controles positivos y las mismas láminas de alpaca como controles negativos reemplazando el anticuerpo primario por BSA al 0.1%.

La lectura de láminas preparadas mediante inmunohistoquímica se realizó con el microscopio DM4B usado en el estudio morfométrico y morfológico, previamente descrito. Para analizar la marcación específica de SGLT-1 y GLUT-2 en el eje cripta-vellosidad del intestino delgado, se dividió en dos zonas: vellosidad (apical, media, basal) y cripta (Yang *et al*., 2011). Para SGLT-1, se determinó la marcación en la membrana apical de los enterocitos y para GLUT-2 en la membrana apical y en la membrana basolateral de los enterocitos. La intensidad de la marcación se clasificó como 0) sin marcación, 1) marcación leve, 2) marcación moderada y 3) marcación fuerte (Zanuzzi, 2010; Yang *et al*., 2011). Se analizaron 10 campos de cada muestra de cada porción intestinal de cada animal en estudio, determinándose el patrón de marcación.

5.2.2 Células Caliciformes (CCAL)

Las CCAL se estudiaron mediante técnicas histológicas, histoquímicas y de lectinhistoquímica para identificarlas, describirlas y cuantificarlas. La lectura de láminas se realizó con un microscopio Leica DM 4B (Leica, Alemania) utilizado para los estudios morfológicos y morfométricos descritos en el capítulo I.

Para determinar el número de CCAL se utilizaron las láminas coloreadas con H-E, utilizadas para estudios morfológicos y morfométricos y láminas que fueron coloreadas con ácido peryódico de Schiff-Azul alcian (PAS-AA) (AFIP, 1995) (Cuadro 6). Esta técnica permitió la identificación de carbohidratos y de mucinas glicosiladas presentes en el citoplasma de las células

caliciformes. El conteo de células caliciformes se realizó en todas las porciones de intestino delgado, en el caso del intestino grueso no se realizó porque es muy elevada su proporción en las criptas colónicas y no se puede tener una lectura correcta del número. Se observaron 25 ejes cripta-vellosidad de duodeno, yeyuno e íleon, por cada animal en estudio. En el primer y segundo tercio de gestación el recuento se realizó en las evaginaciones del epitelio. Los resultados fueron tabulados en tablas y utilizando el programa SPSS 15.0 se les realizó pruebas no paramétricas.

Las características de las CCAL se describieron en tejidos coloreados con H-E en cada etapa del desarrollo de los animales. En las láminas coloreadas con PAS-AA se identificaron las CCAL y se observó su coloración, identificándose células PAS positivas de color magenta que indica la presencia de mucinas y sialomucinas, AA positivas de color turquesa lo cual nos indica la presencia de glicosaminoglicanos sulfatados y células PAS y AA positivas, las cuales son de color púrpura que nos indica un contenido mixto. En cada campo estudiado se identificaron el color de las células marcadas y el grado de marcación de cada célula. Se generaron las siguientes categorías: 1, marcación leve; 2, marcación moderada y 3, marcación fuerte.

Para el estudio de glicoconjugados presentes en el citoplasma de las CCAL se utilizaron tejidos montados en láminas positivadas con Poly L-lisina (Sigma Aldrich, USA) y procesadas mediante la técnica de lectinhistoquímica (LHQ). Esta técnica permite la localización, identificación y distinción con alta sensibilidad y especificidad de las diferentes secuencias de carbohidratos presentes en el citoplasma de las CCAL para profundizar los resultados obtenidos con las técnicas de PAS y AA.

La lectura de las láminas preparadas con LHQ fue cualitativa, se identificaron las CCAL y se determinó el grado de marcación para cada lectina, según el siguiente criterio: 0, ausencia de marcación; 1, marcación leve; 2, marcación moderada y 3, marcación fuerte. Este estudio nos permitió identificar el tipo de carbohidrato presente en el citoplasma de las CCAL de la alpaca en las diferentes etapas de desarrollo, los resultados se colocaron en tablas por lectinas. Para la lectura de láminas se utilizó el microscopio Leica DM 4B (Leica, Alemania) utilizado para los estudios morfológicos y morfométricos descritos en el capítulo I.

5.2.3. Células de Paneth (CP)

El estudio de CP se realizó mediante diferentes técnicas histológicas, histoquímicas de lectinhistoquímica y de inmunohistoquímica (IHQ).

Técnicas histológicas e histoquímicas: De las muestras incluidas en parafina se hicieron cortes de 5 µm de espesor, que fueron colocados en láminas portaobjetos y coloreados con Hematoxilina-Eosina (H-E) (Cuadro 4), Tricrómico de Masson (Cuadro 5), Floxina tartrazina

(Cuadro 7) y PAS azul alcian (Cuadro 6) (Lendrum, 1947; Bradbury y Gordon, 1990; Zanuzzi, *et al.*, 2008; Lira *et al*., 2012; Vásquez *et al.,* 2014).

Lectinhistoquímica: Se utilizó esta técnica para identificar la presencia de glicoconjugados en el contenido de las CP, para ello se utilizaron las láminas preparadas para el estudio de CCAL y de expresión de glicoconjugados en el epitelio, la técnica es descrita en el Cuadro N 9 (Zanuzzi *et al.,* 2008; Martínez *et al*., 2009; Zanuzzi *et al.,* 2010).

Inmunohistoquímica: se utilizaron cortes de 5 µm de espesor que fueron colocados en láminas portaobjetos previamente embebidas con Poly-L-Lysina (P 8920, Sigma-Aldrich, USA). Se utilizó un anticuerpo policlonal biotinilado de conejo anti-lisozima (Accurate Chemical and Scientific Corporation Westbury, NY, USA), diluido en una concentración de 1:50. Como sistema de detección se usó el Horseradish Peroxidasa Streptavidin SA 704 (Vector Laboratories, Inc., Burlingame, CA, USA) y como sistema de revelado la 3´3 diaminobencidina (DAB) (Vector Laboratories, Inc., Burlingame, CA, USA). Se prepararon controles positivos que incluyeron glándula lacrimal de ratón y alpaca, así como yeyuno de íleon de ratón (Cuadro 11) (Zanuzzi *et al.,* 2008; Lira *et al*., 2012; Vásquez *et al*., 2014).

Otro grupo de láminas fue incubado durante toda la noche con anticuerpo monoclonal de ratón anti antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA) clon PC10 (Santa Cruz Biotechnology, Inc, Ca, USA), diluido en una concentración de 1:100. Como sistema de amplificación y detección se utilizó el kit ABC de ratón (Santa Cruz Biotechnology, Inc, Ca, USA) (Cuadro 10) (Zanuzzi, 2010).

Análisis de Imágenes: las imágenes fueron capturadas con un microscopio trinocular (Carl Zeiss, modelo Primo Star, Alemania) con un ocular WF 10x/20, objetivos de 10X, 40X y 100X, que tiene adicionado una cámara digital (Canon Powershot G9, 12 megapixels, Japón); las imágenes se archivaron en formato Jpg, para luego ser procesadas y analizadas usando el programa AxioVision 4.7 LE Canon para Carl Zeiss. Se evaluaron 30 CP de cada muestra por porción por animal, las variables estudiadas fueron eje mayor, eje menor y área de cada CP.

El número de CP se obtuvo mediante el conteo CP en 30 criptas por muestra por porción intestinal de cada animal, para lo cual se utilizó el objetivo 40X. Se seleccionaron para el estudio las criptas que se encontraban en forma perpendicular a la muscular de la mucosa y presentaban estructura completa.

Análisis Estadístico: se utilizó el programa SPS 15.0. Las diferencias estadísticas entre grupos se establecieron mediante la prueba de ANOVA, seguido de comparación múltiple por la prueba de TUKEY; las diferencias significativas fueron establecidas como $p<0.05$.

5.2.4 Células enteroendocrinas (CEE)

La identificación de CEE en el epitelio intestinal se realizó mediante la técnica de IHQ (Cuadro 10), mediante el uso diferentes anticuerpos que reconocen al principal producto de secreción de los tipos celulares estudiados. Se identificó el lugar de ubicación de las células así también se determinó la edad según el desarrollo en que aparecen. Para este estudio se identificaron las siguientes células enteroendocrinas:

5.2.4.1. Células L: Las células L son las principales productoras del **péptido tipo glucagon 1 (GLP-1)** que tiene una función importante en el metabolismo de la glucosa, y cumple un rol fundamental en la regulación de la secreción de insulina por parte de las células B del páncreas (D`Alesio *et al*., 2007; Lu, 2008). Para identificar estas células se utilizó la marcación de GLP-1 mediante IHQ con el anticuerpo primario anti-GLP-1 (sc-73508, Santa Cruz Biotechnology), que es un anticuerpo monoclonal de ratón utilizado en una concentración de 1:50. El sistema de amplificación y revelado usado fue el Kit mouse ABC staining system (sc-2017, Santa Cruz Biotechnology, USA). Como control positivo se utilizaron cortes de intestino delgado de ratón y colon de rata; como control negativo se utilizaron cortes de intestino de alpaca donde se reemplazó el anticuerpo primario por BSA al 0.1%. (Cuadro 10) (Anglas *et al.,* 2012).

5.2.4.2 Células K: Las células K son productoras del péptido inhibidor gástrico (GIP) (Shibasaki y Seino, 2011; Yabe y Seino, 2011), que tiene como función disminuir el movimiento gástrico. Para la identificación de estas células se utilizó el anticuerpo primario policlonal de conejo anti-GIP (Número catálogo ab22624, Abcam, Cambridge, Reyno Unido) en una concentración de 1:200. El sistema de amplificación y detección utilizado fue el Kit ImmunoCruz® rabbit ABC staining system (sc-2018, Santa Cruz Biotechnology, USA). Como control positivo se utilizaron cortes de duodeno de rata; como control negativo se utilizaron cortes de duodeno de alpaca donde se reemplazó el anticuerpo primario por BSA al 0.1% (Cuadro 10).

5.2.4.3 Células I: la principal secreción de estas células es la colecistoquinina (CCK), que tiene un rol importante en la función interdigestiva y la función de la vesícula biliar (Zhu *et al*., 2011). Las células I fueron identificadas mediante la marcación de CCK por IHQ con el anticuerpo primario policlonal de conejo anti CCK (número de catálogo LS-C33772, Biosciences, USA) en una concentración de 1:200. El sistema de amplificación y detección utilizado fue el Kit ImmunoCruz® rabbit ABC staining system (sc-2018, Santa Cruz Biotechnology, USA). Como

control positivo se utilizaron cortes de duodeno de rata; como control negativo se utilizaron cortes de duodeno de alpaca donde se reemplazó el anticuerpo primario por BSA 0.1% (Cuadro 10).

5.4.3.4 Células N: Las células N son células enteroendocrinas ubicadas en el epitelio intestinal, cuya principal secreción es el péptido neurotensina, que es una hormona reguladora de varios procesos digestivos, que incluyen la secreción de ácido clorhídrico en el estómago, y la motilidad y proliferación celular en el intestino. Para la identificación de las células N en el epitelio intestinal de la alpaca se utilizó el anticuerpo policlonal de conejo anti-neurotensina, en una concentración de 1:200 (Número catálogo ab43833, Abcam, Cambridge, Reyno Unido). El sistema de amplificación y detección utilizado fue el Kit ImmunoCruz® rabbit ABC staining system (sc-2018, Santa Cruz Biotechnology, USA). Como control positivo se utilizaron cortes de intestino delgado de ratón y rata; como control negativo se utilizaron cortes de intestino de alpaca donde se reemplazó el anticuerpo primario por BSA al 0.1% (Cuadro 10).

La lectura de láminas se realizó con un microscopio Leica DM 4B (Leica, Alemania) con el objetivo de 40x. El número de células enteroendocrinas se determinó mediante el conteo de células marcadas con el anticuerpo respectivo en 30 ejes cripta-vellosidad para cada porción intestinal de cada animal. En el primer y segundo tercio de gestación el recuento se realizó en las evaginaciones del epitelio. Los resultados fueron tabulados y sometidos a pruebas estadísticas no paramétricas con el programa SPS 15.0.

5.3. RESULTADOS

5.3.1 Enterocitos

5.3.1.1 Etapa fetal

El desarrollo del epitelio intestinal y la diferenciación de sus células, en todas las porciones del intestino, comenzó durante el primer tercio de gestación. En el intestino delgado, hacia los 56 días de gestación y en el intestino grueso hacia los 80 días de gestación, se observaron células cilíndricas con núcleos basales, citoplasma con fuerte eosinofilia. Estas células, ubicadas principalmente hacia la punta de las evaginaciones de la mucosa, poseen características similares a los enterocitos. La intensidad de la tinción de estas células fue disminuyendo conforme avanzó la edad gestacional (Figura 38a, b). Hacia el final del primer tercio de gestación, se pudo identificar mediante inmunohistoquímica la presencia de transportadores de glucosa SGLT-1 y GLUT-2 en las células ubicadas cerca la punta de las evaginaciones en las tres porciones del intestino delgado (Cuadros 29 y 30).

En el segundo tercio de gestación, la totalidad del epitelio cambió de estratificado a simple, observándose hacia el final del segundo tercio de gestación vellosidades revestidas completamente por células epiteliales con características de enterocitos postnatales, con presencia de chapa estriada (Figura 38 d). En estas células se detectaron transportadores de glucosa, tanto SGLT-1 como GLUT-2, en toda la extensión de las evaginaciones y posteriormente en las vellosidades formadas. Al final del segundo tercio, se observaron células con una marcación leve para GLUT-2 en las criptas (Cuadros 29 y 30). En el colon, el desarrollo del epitelio intestinal fue más lento, y recién hacia finales de este periodo se empezó a observar un epitelio que pasó de estratificado a simple, con presencia de células tipo enterocitos, también conocidas como colonocitos, ubicadas hacia la punta de las evaginaciones y vellosidades (Figura 38c).

En el tercer tercio de gestación, en el intestino delgado, la diferenciación de las vellosidades y los enterocitos fue más evidente; sin embargo, las células epiteliales presentaron vacuolas que contenían glucógeno en el citoplasma, y se denominaron enterocitos vacuolados fetal (Figura 38 e, g). En el intestino grueso, hacia el final de este periodo se observó un recorte de las vellosidades con desprendimiento de las puntas, observándose un número menor de células tipo colonocitos, siendo más abundantes en la zona más apical, en el resto del epitelio se observó un marcado incremento de CCAL; a diferencia del intestino delgado no se observan enterocitos vacuolados fetal, pero si se observaron células en apoptosis (Figura 38 f, h). En este periodo, en intestino delgado, también se observó marcación de ambos transportadores, SGLT-1 y GLUT-2, predominantemente en la membrana apical de los enterocitos de la zona apical de la vellosidad (Cuadros 29 y 30, Figuras 40a, 41a).

5.3.1.2 Etapa postnatal:

En el intestino delgado, en animales recién nacidos se observó una gran cantidad de enterocitos vacuolados fetales, que posteriormente fueron muriendo por apoptosis, y ya en el día 7 fueron reemplazados por completo por enterocitos tipo adulto muy similares a los del animal adulto (Figura 39 a, c, e). En el intestino grueso los colonocitos se observan especialmente en las regiones más superficiales del epitelio colónico, con características muy similares a las encontradas en el adulto. Sin embargo, su número es reducido en comparación al intestino delgado por la abundancia de CCAL en el colon (Figura 39 b, d, f).

En la etapa postnatal, la marcación de transportadores de glucosa SGLT-1 se observó en las vellosidades de las tres porciones de intestino delgado. En duodeno e íleon, la marcación fue fuerte en la zona apical, moderada en la zona media y leve en la zona basal de la vellosidad y no se observó marcación en células de la cripta. En el caso del yeyuno, se observó una marcación fuerte en la zona apical y media, y marcación moderada en la zona basal de las vellosidades,

principalmente en crías, mientras que en los adultos la marcación fue leve. En criptas solo se observó marcación en crías entre 16 a 36 días post nacimiento (Cuadro 29, Figura 40 b, c, d).

La marcación de transportadores de glucosa GLUT-2, tuvo un patrón muy similar a la del transportador SGLT-1. La marcación en las membranas apicales fue fuerte en la zona apical y media de las vellosidades de las 3 porciones del intestino delgado; en cambio, en la zona basal de las vellosidades se observó una marcación moderada en duodeno y yeyuno y entre moderada y fuerte en íleon. La membrana basolateral del epitelio de las vellosidades en la zona media y basal presentó una marcación leve mientras que, en la zona apical en duodeno y yeyuno, la marcación de la membrana basolateral fue moderada en algunas edades. En criptas de duodeno y yeyuno de crías, la marcación fue leve tanto en la membrana apical como en la membrana basolateral, mientras que en adultos no se observó marcación. En el íleon la marcación en las criptas se observó en crías a partir de los 8 días de edad y en adultos no se observó marcación en la membrana basolateral (Cuadro 30, Figura 41 b, c, d, e, f).

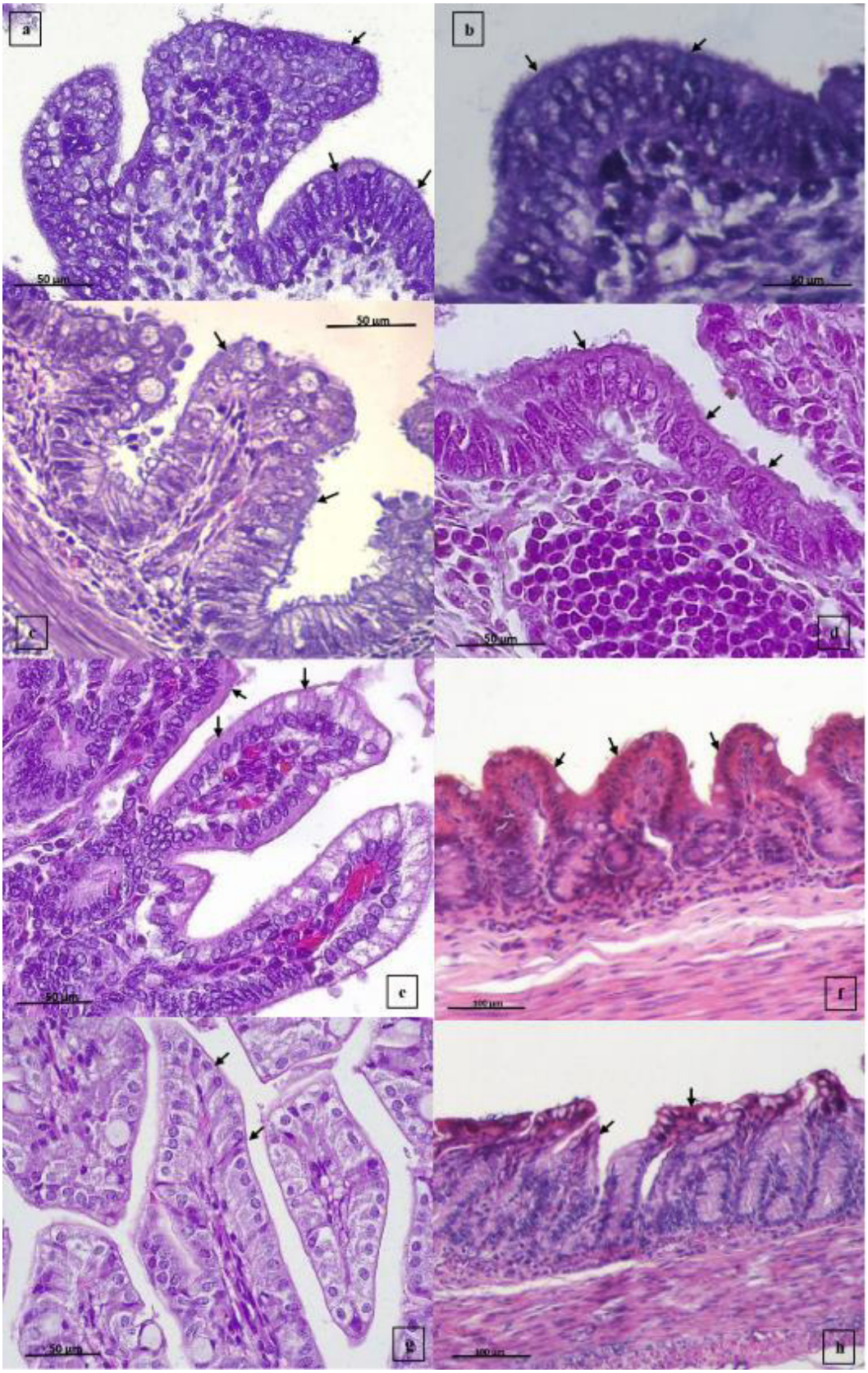


Figura 38: Enterocitos en epitelio intestinal de alpacas de etapa fetal. a) duodeno, 80 días, 40x; b) colon ascendente, 80 días, 40x; c) colon descendente, 145 días, 40x; d) íleon, 221 días, 40x; e) yeyuno, 293 días, 40x; f) colon ascendente, 330 días, 10x; g) duodeno, 334 días, 40x; h) colon transverso, 334 días, 10x. Coloración H-E.

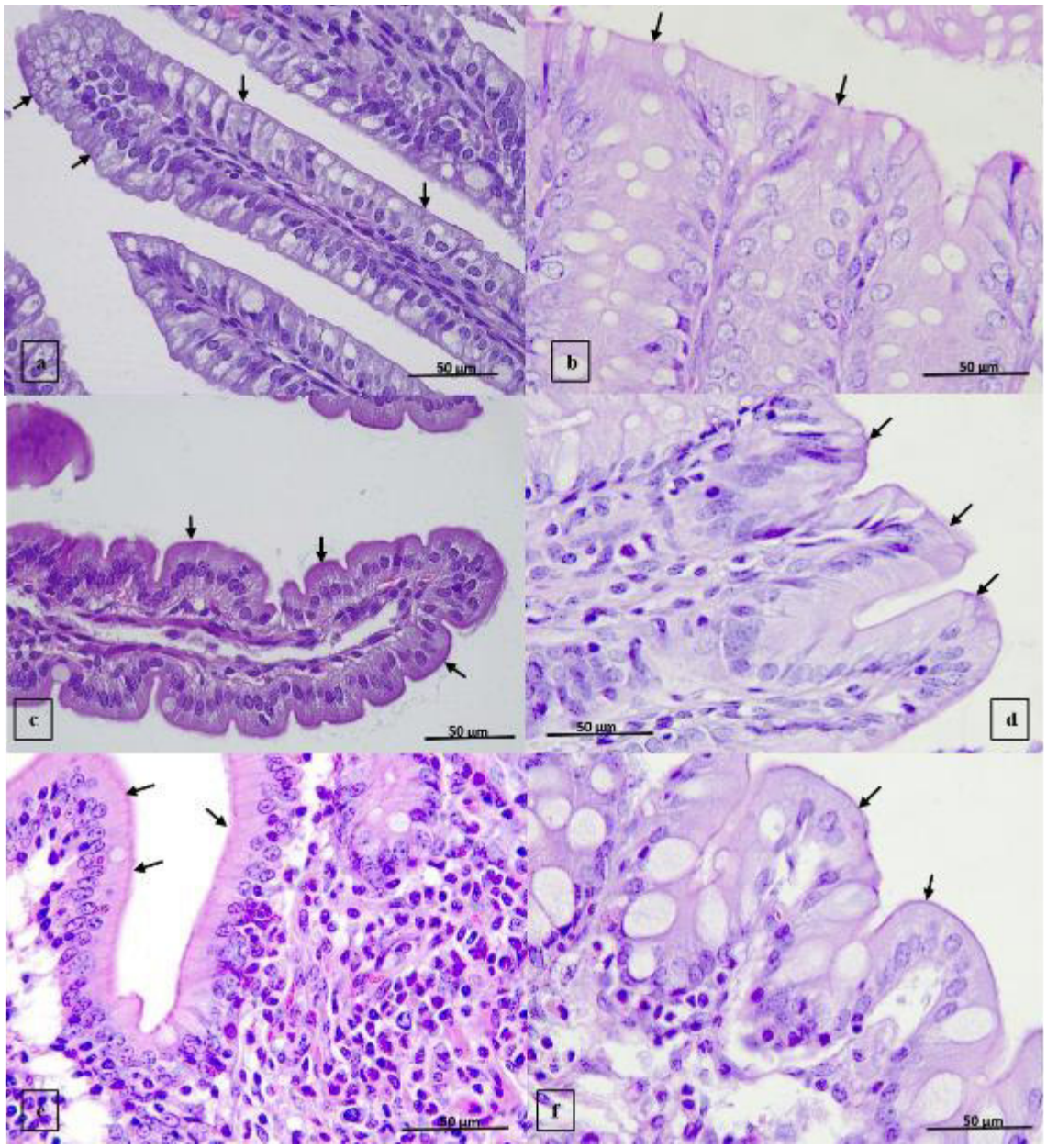


Figura 39: Enterocitos en epitelio intestinal de alpacas, etapa postnatal. a) yeyuno, 0 días, 40x; b) colon descendente, 5 días, 63x; c) duodeno, 3 días, 40x; d) colon descendente, 31 días, 63x; e) íleon, adulto, 63x; f) colon transverso, adulto, 63x. Coloración H-E.

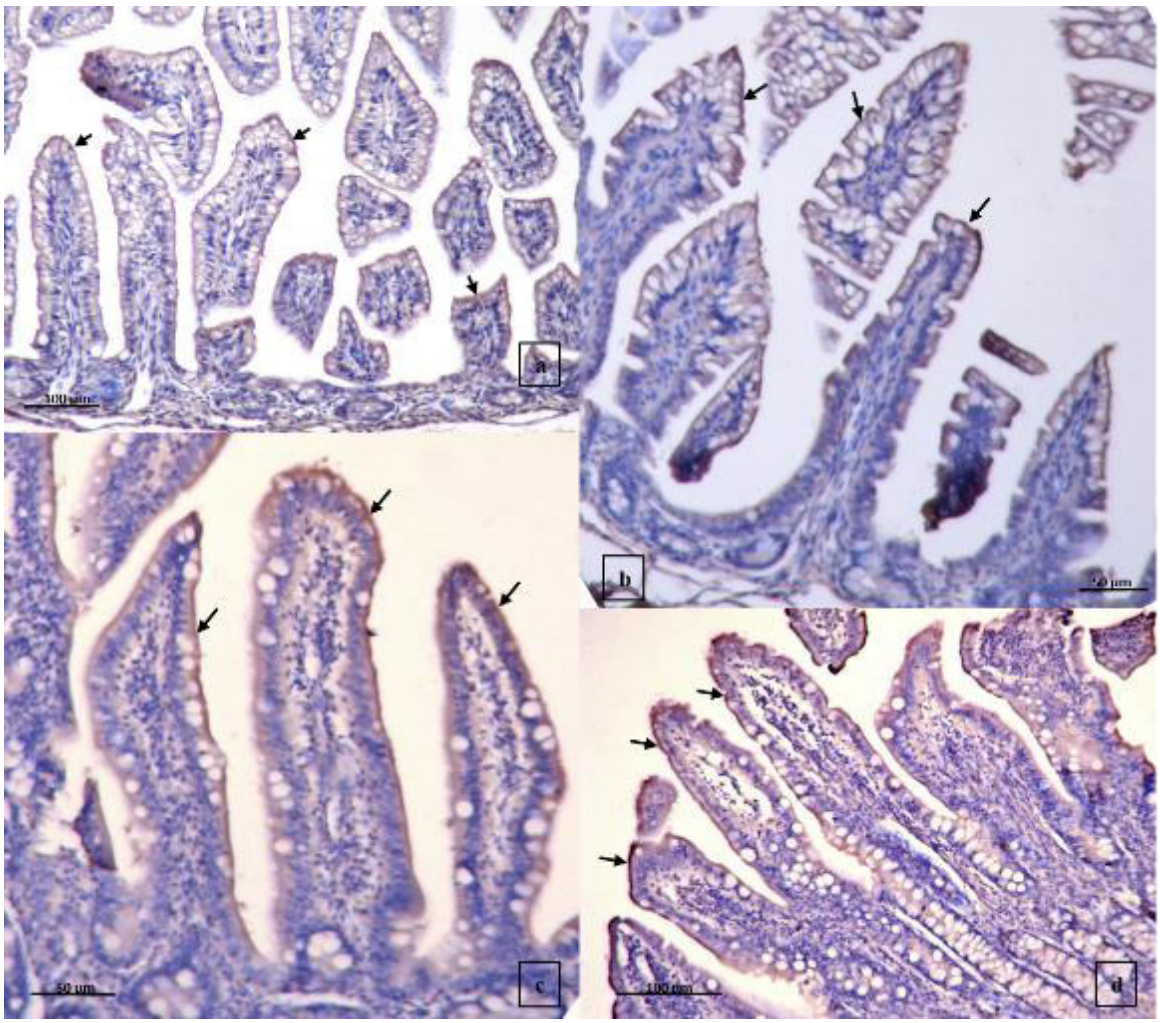


Figura 40: Identificación de transportadores SGLT-1 en epitelio de intestino delgado de alpacas mediante IHQ. Etapa prenatal: a) yeyuno, 334 días; Etapa postnatal: b) yeyuno, 1 día de edad; c) íleon, 36 días; d) íleon, 45 días. 10x. Coloración de contraste Hematoxilina de Harris.

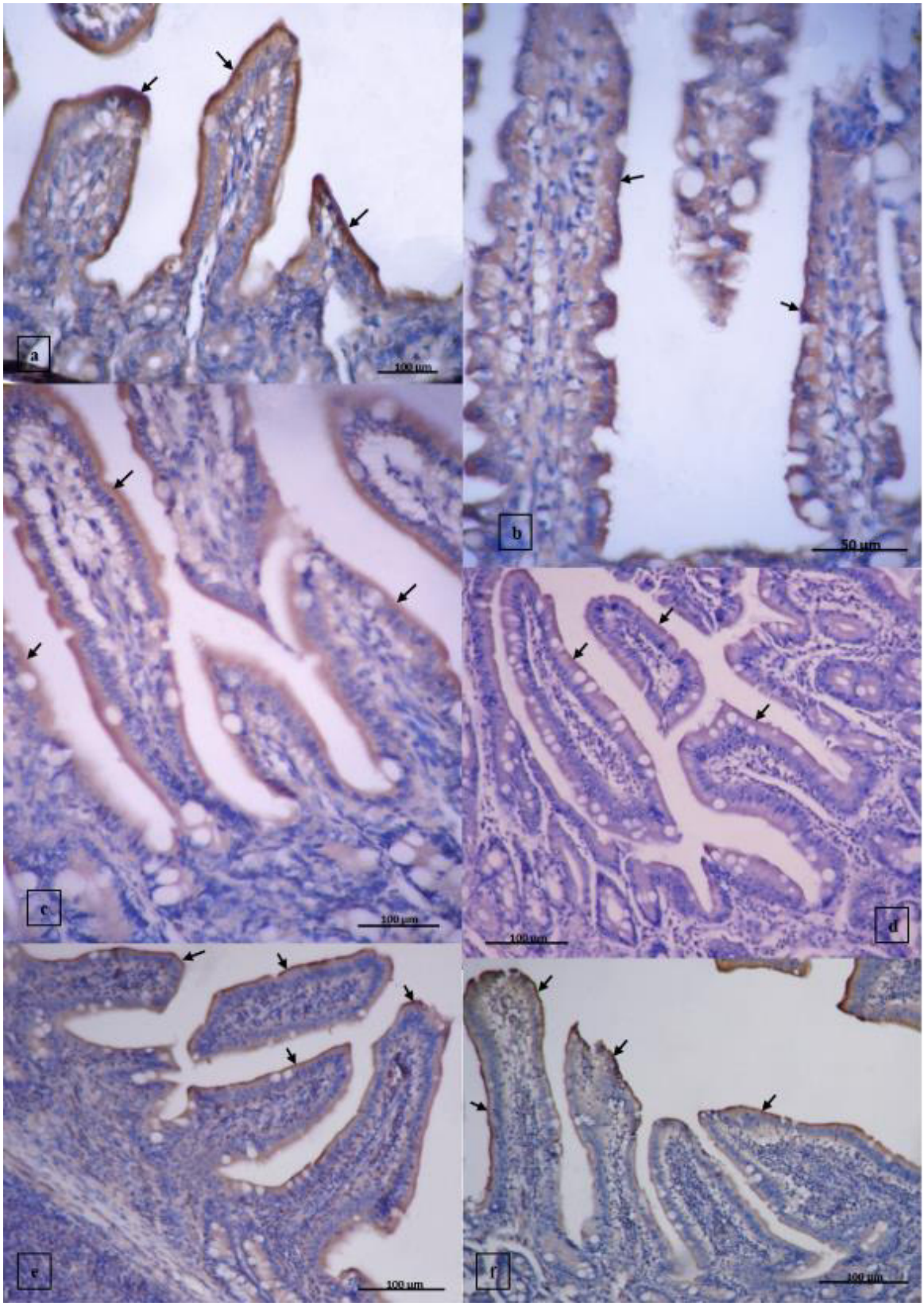


Figura 41: Identificación de transportadores GLUT-2 en epitelio de intestino delgado de alpacas mediante IHQ. Etapa prenatal: a) duodeno, 334 días, 10x. Etapa postnatal: b) duodeno, 0 días, 40x; c) duodeno, 1 día, 40x; d) duodeno, 11 días, 10x; e) íleon, 45 días, 10x. f) íleon, 45 días, 10x. Coloración de contraste Hematoxilina de Harris.

Cuadro 29: Grado de marcación de transportadores SGLT-1 en eje cripta vellosidad del intestino delgado de alpacas

Etapa	Edad	Duodeno				Yeyuno				Íleon			
		Vellosidad			Cripta	Vellosidad			Cripta	Vellosidad			Cripta
		Apical	Medio	Basal		Apical	Medio	Basal		Apical	Medio	Basal	
Fetal	F1T	1	-	-	-	1	-	-	-	1	1	-	-
	F2T	2	2	2	0	2	3	2	0	2	2	2	0
	F3T	3	3	2	0	3	3	3	0	3	2	2	0
Postnatal, días	0-7	3	2	1	0	3	2	2	0	3	3	2	0
	8-15	3	2	1	0	3	2	1	0	3	3	1	0
	16-21	2	2	1	0	3	3	2	1	3	2	1	0
	22-27	3	2	1	0	3	3	2	1	3	3	1	0
	28-36	3	2	1	0	3	3	3	1	3	3	1	0
	37-45	2	1	0	0	3	2	1	0	2	2	2	0
	Adultos	2	1	0	0	3	2	1	0	2	2	1	0

F1T: feto de primer tercio de gestación (46-110 días), F2T: feto de segundo tercio de gestación (111-229 días), F3T: feto de tercer tercio de gestación (230-340 días).
0: sin marcación; 1: leve; 2: moderada; 3: fuerte

Cuadro 30: Grado de marcación de transportadores GLUT-2 en el eje cripta vellosidad del intestino delgado de alpacas.

Etapa	Edad	Duodeno								Yeyuno								Íleon							
		Vellosidad						Cripta		Vellosidad						Cripta		Vellosidad						Cripta	
		Apical		Media		Basal				Apical		Media		Basal				Apical		Media		Basal			
		MA	BL	MA	BL	MA	BL	MA	BL	MA	BL	MA	BL	MA	BL	MA	BL	MA	BL	MA	BL	MA	BL	MA	BL
Fetal	F1T	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-
	F2T	2	2	2	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	1	1	2	1	2	1	2	1	1	1
	F3T	3	2	3	2	2	1	1	1	3	1	3	1	2	1	1	1	3	1	3	1	3	1	0	0
Postnatal, días	0-7	3	1	2	1	2	1	1	1	3	2	3	1	2	1	1	1	3	1	3	1	3	1	0	0
	8-15	3	2	3	1	2	1	1	1	3	1	3	1	2	1	1	1	3	1	3	1	2	1	1	1
	16-21	3	2	3	2	2	1	1	1	3	1	3	1	2	1	1	1	3	1	3	1	3	1	0	0
	22-27	3	1	3	1	2	1	1	1	3	2	3	1	2	1	1	1	3	1	3	1	3	1	1	1
	28-36	3	1	3	1	2	1	1	1	3	2	3	1	2	1	1	1	3	1	3	1	2	1	1	1
	37-45	3	1	3	1	2	1	1	1	3	2	3	2	3	1	1	1	3	1	3	1	2	1	1	0
	Adultos	3	1	3	1	1	1	0	0	3	1	3	1	1	1	0	0	3	1	3	1	2	1	1	0

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días), F2T: fetos de segundo tercio de gestación (111-229 días), F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días).

MA: membrana apical; BL: membrana basolateral

0: sin marcación; 1: leve; 2: moderada; 3: fuerte

5.3.2 Células Caliciformes (CCAL)

Las CCAL son células secretoras que se encuentran en el epitelio intestinal, distribuidas en el eje cripta vellosidad en todo el intestino. La aparición de este tipo celular se inició a muy temprana edad en la etapa fetal, y se mantuvo durante todo el desarrollo hasta la etapa postnatal.

5.3.2.1 Morfología y número de CCAL

En el primer tercio de gestación, desde los 56 días, en duodeno, yeyuno e íleon, se observaron células globosas con citoplasma cromófobo y núcleo desplazado hacia la base de la célula, se encontraron inmersas dentro del epitelio estratificado (Figura 42 a). En esta etapa no se contaron porque las evaginaciones son pequeñas y la presencia de epitelio cilíndrico estratificado, dificultó su conteo. En el intestino grueso estas células se pudieron observar después del día 80 de gestación, con las mismas características que en el intestino delgado (Figura 42 b).

En el intestino delgado, hacia los 110 días post concepción (segundo tercio de gestación) se comenzaron a observar células diferenciadas de forma globosa y núcleo basal, similares a las CCAL maduras, las cuales presentaron un mayor tamaño en las siguientes edades. Estas células se encontraron distribuidas en las evaginaciones, principalmente en las zonas donde el epitelio presenta menos capas (Figura 42 c). El número de células identificadas estuvo en un rango de 0 a 9 por evaginación con una mediana de 5 y una moda de 7, mientras que en yeyuno la moda fue de 2 y en íleon de 6 con rangos que iban de 0 a 12 (Cuadro 31). En el intestino grueso, también se observaron células similares a las CCAL distribuidas en toda la evaginación del epitelio, incrementándose el número conforme avanzó la edad (Figura 42d).

En el tercer tercio de gestación se observaron CCAL bien diferenciadas distribuidas en el eje cripta vellosidad en todo el intestino delgado (Figura 42 e), el número fue mayor hacia el final de la gestación, con rangos que van de 5 a 24 células por eje cripta vellosidad, con una moda de 9 en duodeno e íleon y de 7 en yeyuno (Cuadro 31). En el intestino grueso se observó un mayor número de CCAL en las criptas, cubriendo casi en su totalidad la superficie (Figura 42 f).

En la etapa postnatal, las CCAL se observaron en todas las porciones intestinales, como células globosas en forma de cáliz, con núcleo basal (Figura 43). En intestino delgado, el mayor número de CCAL se observó en duodeno, con el mayor número entre 0 y los 7 días post nacimiento (15 células por eje cripta-vellosidad). En yeyuno, se observó un rango de 5 a 30 CCAL con una moda de 9 células por eje cripta vellosidad en el recién nacido y un rango de 9 a 25 células, con una moda de 14 células por eje cripta vellosidad en la etapa adulta. En íleon, el número de CCAL se mantuvo en valores similares desde el último tercio de gestación hasta los

primeros 21 días post nacimiento, para luego aumentar llegando a un mayor número en animales adultos donde se observó una moda de 17 células por eje cripta vellosidad (Cuadro 31).

Cuadro 31: Número de células caliciformes en el eje cripta-vellosidad en intestino delgado de alpacas.

Etapa	Edad	Duodeno				Yeyuno				Íleon			
		Mediana	Mo	M	Mx	Mediana	Mo	M	Mx	Mediana	Mo	M	Mx
Fetal	F2T	5.0	7	0	9	3.5	2	0	12	5.5	6	0	12
	F3T	10.0	9	5	24	8.0	7	1	19	10.0	9	5	23
Postnatal, días	0-7	15.0	15	2	30	11.0	9	5	30	10.0	9	3	24
	8-15	14.5	13	10	20	11.0	11	7	20	10.0	9	6	16
	16-21	11.0	9	5	22	9.0	9	2	25	11.5	7	6	18
	22-27	13.5	14	7	17	14.5	8	8	21	12.5	13	6	24
	28-36	12.5	9	7	28	14.0	13	5	27	10.0	10	5	15
	37-45	13.0	13	6	27	11.0	13	3	20	13.5	9	9	19
	Adultos	12.0	12	7	16	17.0	14	9	25	23.5	17	17	30

Mo: moda; M: valor mínimo; Mx: valor máximo

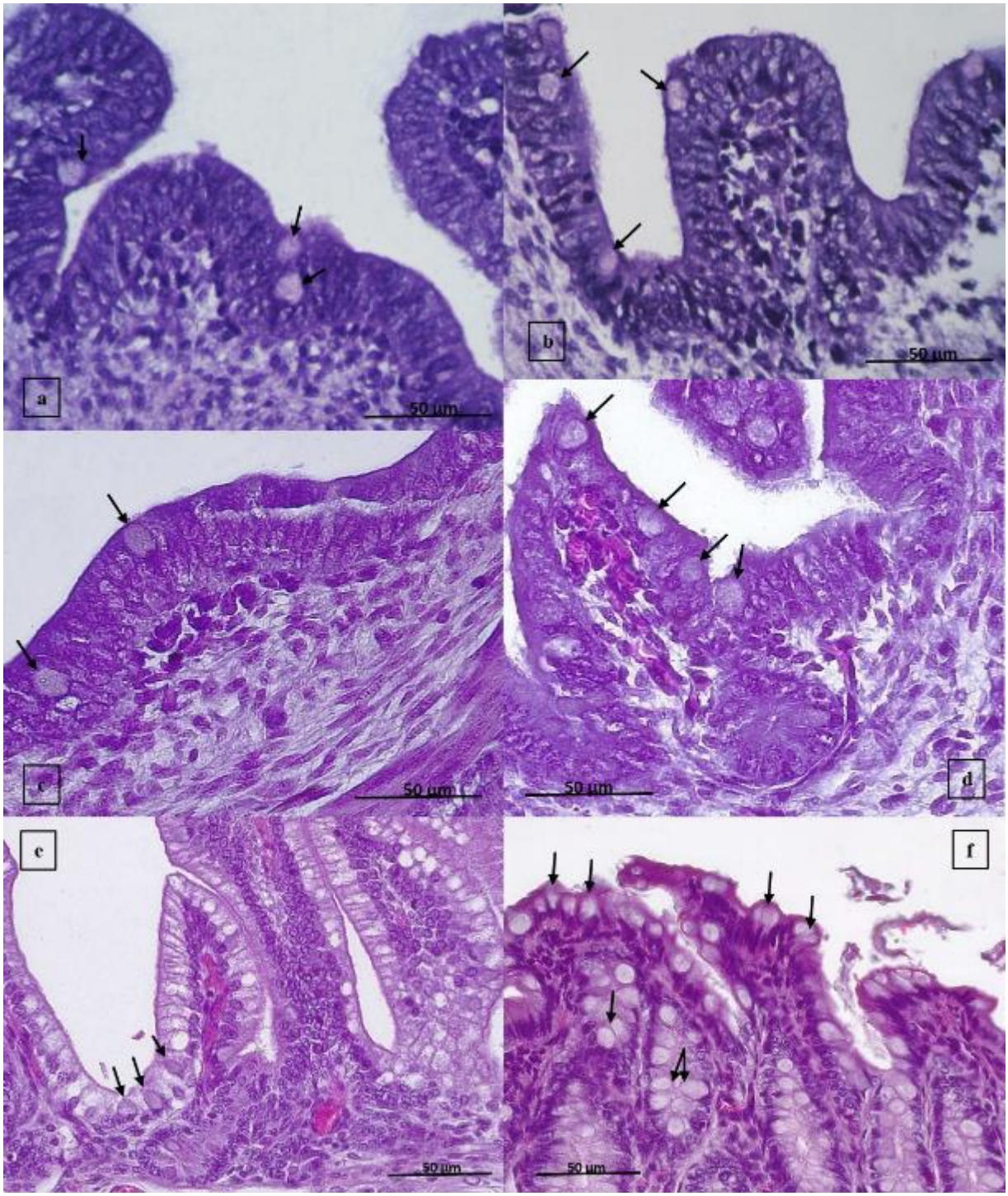


Figura 42: Células caliciformes en el epitelio intestinal en fetos de alpacas. a) duodeno, 56 días, 40x; b) colon ascendente, 80 días, 40x; c) íleon, 119 días, 40x; d) ciego, 207 días, 40x; e) yeyuno, 330 días, 40x; f) colon descendente, 334 días, 40x. Coloración H-E.

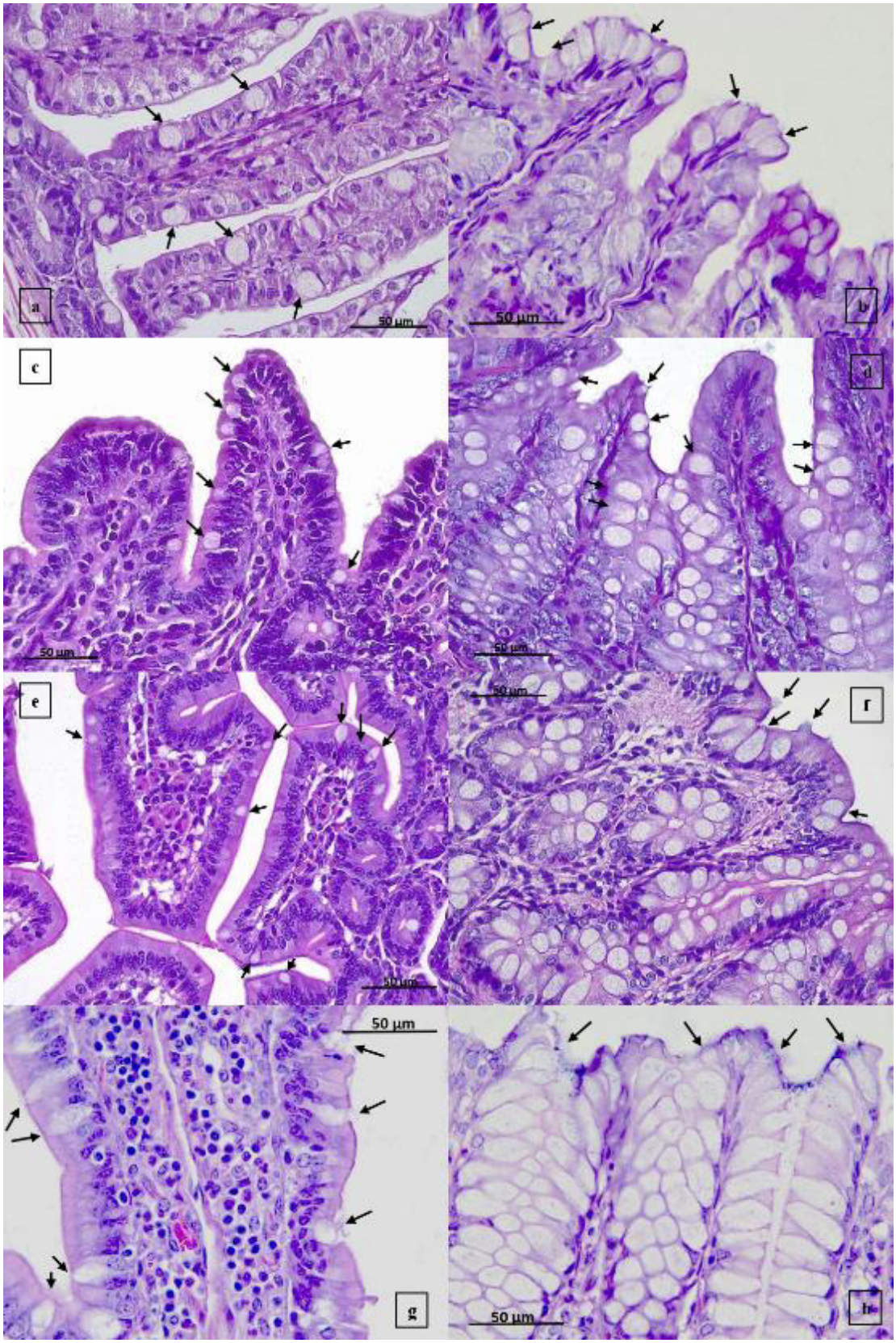


Figura 43: Células caliciformes en epitelio intestinal de alpacas. a) duodeno, recién nacido, 40x; b) colon descendente, 1 día, 63x; c) íleon, 15 días, 40x; d) colon transverso, 18 días, 40x; e) duodeno, 35 días, 40x; f) colon ascendente, 43 días, 40x; g) duodeno, adulto, 63x; h) colon descendente, adulto, 63x. Coloración H-E.

5.3.2.2 Estudio de células caliciformes mediante coloración PAS-AA

Para los estudios de PAS-AA y LHQ el segundo tercio de gestación fue dividido en 2 etapas: fetos de segundo tercio de gestación a (F2Ta) que comprende edades entre 111 a 164 días y fetos de segundo tercio de gestación b (F2Tb) que incluye fetos entre 165 a 229 días. Esta división se realizó porque en el segundo tercio de gestación se observaron dos etapas de desarrollo del epitelio, la primera donde no existen vellosidades y criptas diferenciadas y la segunda donde se puede definir claramente el eje cripta-vellosidad. Los resultados obtenidos se expresaron en una tabla comparativa por porciones y edades (Cuadro 31).

En duodeno, mediante la técnica de PAS-AA, se observaron algunas variaciones en las primeras etapas de desarrollo. Las células con citoplasma cromófobo observadas con H-E en el primer tercio de gestación se colorearon, algunas de magenta (PAS+) y otras de púrpura (mixtas). En la primera mitad del segundo tercio desaparecieron las células PAS+, y aparecieron las AA+ (turquesas), que se mantuvieron siendo las únicas hasta la segunda mitad del segundo tercio. Este tipo de coloración celular se observó también en las CCAL de adultos; mientras que en fetos de tercer tercio y en crías desde el nacimiento hasta los 45 días se encontraron CCAL con marcación fuerte para PAS, AA y marcación mixta (Figura N° 44 e, f, g; Cuadro 31).

En yeyuno, con la coloración PAS-AA se pudieron observar células positivas en fetos del primer tercio de gestación, algunas fuertemente PAS+, otras son AA+ (Figura 44 a). En el segundo tercio, a diferencia de lo hallado en duodeno, hasta los 164 días solo se observaron células PAS+ y entre los 165 a 229 días solo AA+. A partir del tercer tercio hasta los 45 días post nacimiento se observaron células PAS+, AA+ y mixtos y en adultos solo predominan las AA+ (Figura 44 d). En el caso de íleon, las CCAL fueron PAS+ en el primer tercio de gestación, mientras que en el segundo tercio hasta los 165 días solo se observaron células AA+ y mixtas, luego hasta la etapa postnatal (crías) se observaron los 3 tipos de células, PAS+, AA+ y mixtas, pero en adultos solo se observaron células AA+ (Cuadro 31).

En el ciego, se observaron células con un aspecto similar al de CCAL desde los 80 días de gestación, las cuales fueron PAS+. Luego, en el resto de la etapa fetal se observaron células PAS+, AA+ y mixtas, mientras que en crías se reconocieron células AA+ y mixtas; y en el adulto solo células AA+ (Cuadro 31).

En el colon ascendente se observaron células con características de CCAL AA+ y mixtas en las evaginaciones de la mucosa desde los 80 días de edad (Figura 44 b); a partir de los 165 días de gestación se pudieron reconocer células PAS+, AA+ y mixtas (Figura 44 c), mientras que en las crías no se observaron células PAS+ y en adultos solo se encontraron células AA+. En colon

transverso las células con características de CCAL se colorearon entre leve y moderado con AA+ en el primer tercio de gestación y en la segunda mitad del segundo tercio. En la primera mitad del segundo tercio de gestación, estas células fueron PAS+, AA+ y mixtas; mientras que, en crías, en todas las edades se observaron células AA+ y de marcación mixta, mientras que en adultos solo se observó células AA+ (Figura 44 h). En el colon descendente, En el primer tercio de gestación se pudieron reconocer algunas células globosas PAS+ y a partir de los 80 días de gestación también se observaron mixtas, las cuales fueron ubicadas en las evaginaciones. Desde el segundo tercio de gestación se reconocieron, además, células AA+ en todas las edades, mientras que las PAS+ solo se observaron en algunas edades. En adultos, en cambio, solo se encontraron células AA+ (Cuadro 32).

Cuadro 32: Tinción de células caliciformes con PAS-AA en epitelio intestinal de alpacas.

Etapa	Edad	Duodeno	Yeyuno	Íleon	Ciego	Colon Ascendente	Colon Transverso	Colon Descendente
Fetal	F1T	2M/3P	3M/2T	3M	2M	3T/3P	1-2T	3M/3P
	F2Ta	3T/3P	2M	3T/3P	3M/3T/3P	2-3T/2P	3M/3T/3P	3M/3T/3P
	F2Tb	3T	2T	3M/3T/3P	3M/3T/3P	2M/2T/3P	2-3T	3T/2P
	F3T	3M/3T/3P	3M/3T/3P	3M/3T/3P	3M/3T/3P	2M/3T/3P	3M/3T/3P	1-3M/3T/3P
Postnatal, días	RN	3M/3T/3P	3M/3T/3P	3M/3T/3P	3T/3P	3M/3T/3P	3T/3P	3T/3P
	1-7	3M/3T/3P	3M/3T/3P	3M/3T/3P	3T/3P	3T/3P	3T/3P	3M/3T/3P
	8-15	3M/3T/3P	3M/3T/3P	3M/3T/3P	3T/3P	3T/3P	3T/3P	1-3M/3T/3P
	16-21	3M/3T/3P	3M/3T/3P	3M/3T/3P	3T/3P	3T/3P	3T/3P	3T/3P
	22-27	3M/3T/3P	3M/3T/3P	3M/3T/3P	3T/3P	3T/3P	3T/3P	3T/3P
	28-36	3M/3T/3P	3M/3T/3P	3M/3T/3P	3T/3P	3T/3P	3T/3P	3M/3T/3P
	37-45	3M/3T/3P	3M/3T/3P	3M/3T/3P	3T/3P	3T/3P	3T/3P	3M/3T/3P
	Adultos	3T	3T	3T	0-3T	2-3T	3T	2-3T

F1T: Fetos de primer tercio de gestación (46 a 110 días), F2Ta: Fetos de segundo tercio de gestación (111-164 días); F2Tb: Fetos de segundo tercio de gestación (165 a 229 días), FT3: Fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacidos. T: turquesa (Azul alcian +), M: magenta (PAS+), P: púrpura (mixta), 0: ausencia de tinción, 1: tinción leve, 2: tinción moderada, 3: tinción fuerte

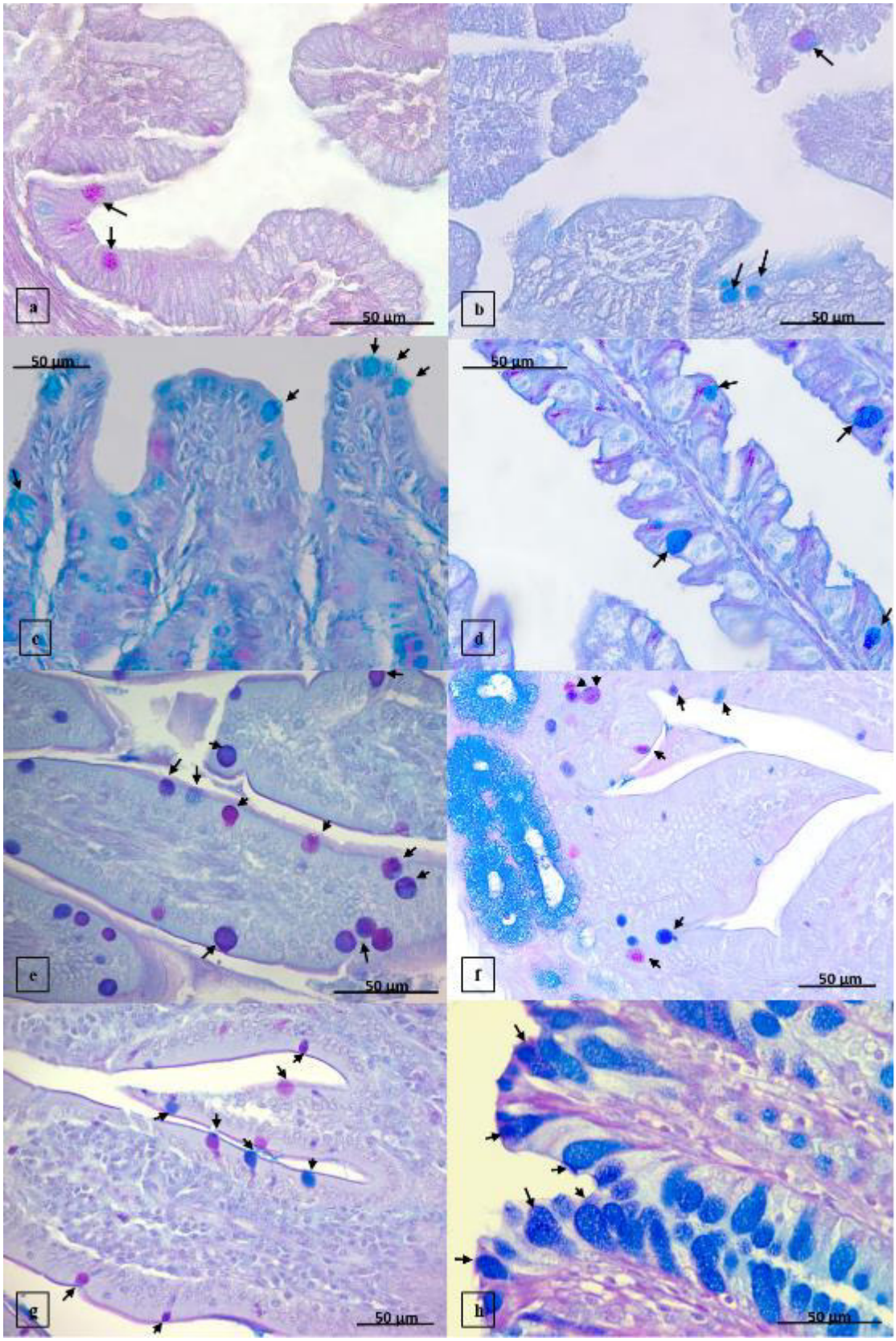


Figura 44: Células caliciformes en epitelio intestinal de alpacas. Etapa fetal: a) yeyuno, 56 días, 63x; b) colon ascendente, 119 días, 63x; c) colon ascendente, 230 días, 63x; d) yeyuno, 334 días, 40x. Etapa postnatal: e) duodeno, 2 días, 40x; f) duodeno, 7 días, 40x; g) duodeno, 30 días, 40x; h) colon transverso, adulto, 63x. Tinción PAS-AA.

5.3.2.3 Estudio de células caliciformes mediante lectinhistoquímica (LHQ)

La técnica de LHQ permitió identificar los glicoconjugados presentes en las CCAL en las diferentes edades y porciones intestinales. La presencia de estos glicoconjugados juega un rol importante en el desarrollo de la barrera intestinal y se puede usar como indicador de maduración de las CCAL.

RCA-1: esta es una lectina que tuvo afinidad principalmente moderada en CCAL del intestino delgado y ciego, encontrándose marcación desde el segundo tercio de gestación (Figura 45 c). En el caso del colon se observó marcación en CCAL desde el primer tercio de gestación siendo esta moderada en colon ascendente y descendente y leve en colon transverso (Figura 45 a). En la primera mitad del segundo tercio de gestación en colon ascendente y descendente la marcación fue fuerte, y en colon transverso moderado. A partir de la segunda mitad del segundo tercio hasta la etapa adulta, en colon transverso y descendente la marcación fue leve, mientras que en colon ascendente se observaron marcaciones de leves a fuertes dependiendo de las edades (Cuadro 33, Figura 45 c, d).

Cuadro 33: Patrón de unión de la lectina RCA-1 en células caliciformes del epitelio intestinal de alpacas.

Etapa	Edad	Duodeno	Yeyuno	Íleon	Ciego	Colon Ascendente	Colon Transverso	Colon Descendente
Fetal	F1T	0	0	0	0	2	1	2
	F2Ta	2	2	2	2	3	1-2	3
	F2Tb	2	2	2	2	1	1	1
	F3T	0-1	1	2	1	1	1	1
Postnatal, días	RN	2	2	2	2	2	1	1
	1-7	3	2	2	2	2	1	1
	8-15	1	2	1	2	1-2	1	1
	16-21	2	2	1-2	2	2-3	1	1
	22-27	2	2	2	2	2	1	1
	28-36	2	2	2	2	2	1	1
	37-45	2	2	1	1	1	1	1
	Adultos	2	2	1	1	1	1	1

F1T: Fetos de primer tercio de gestación (46 a 110 días), F2Ta: Fetos de segundo tercio de gestación (111-164 días, F2Tb: Fetos de segundo tercio de gestación (165 a 229 días), F3T: Fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido

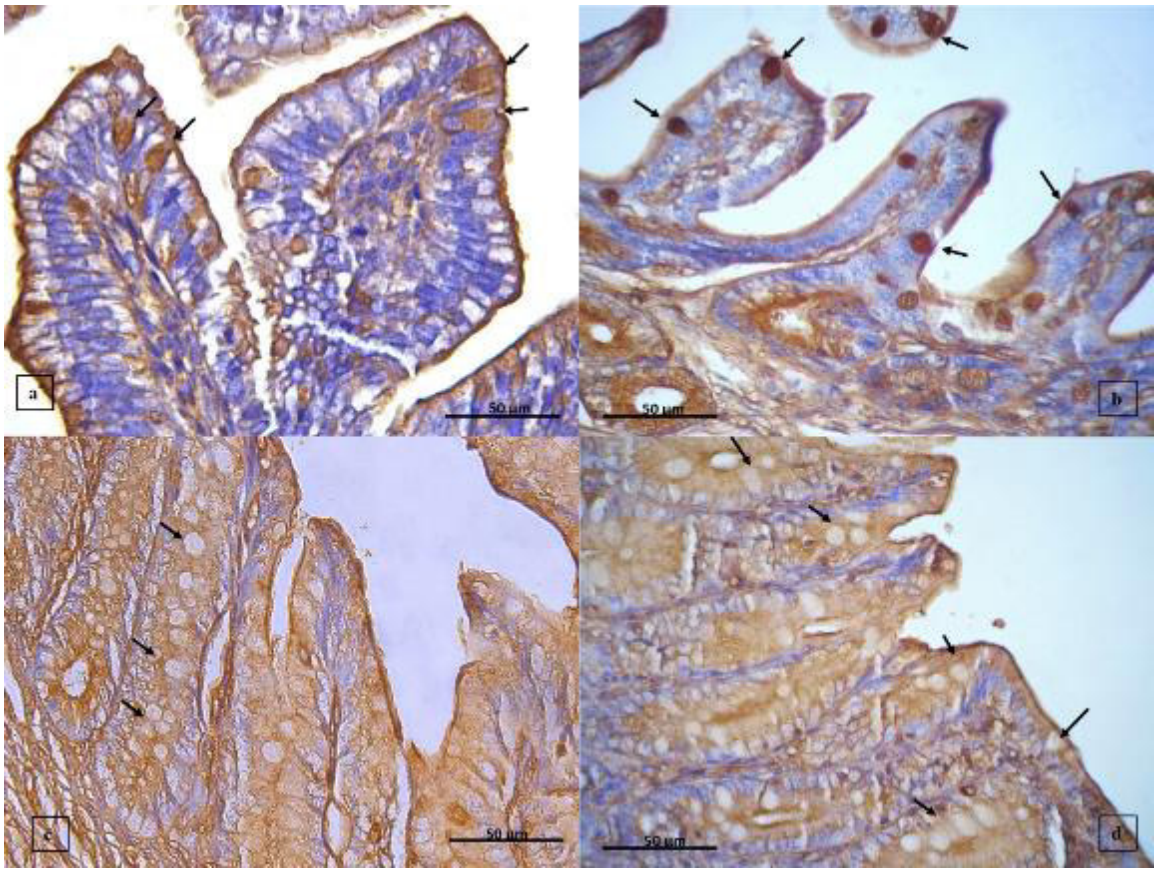


Figura 45: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina RCA-1. a) colon descendente, feto 80 días, 63x; b) íleon, cría de alpaca de 3 días, 40x; c) colon ascendente, cría de 3 días, 40x; d) colon ascendente, cría de 18 días, 40x. Coloración de contraste Hematoxilina de Harris.

DBA: En el primer tercio de gestación no se observó afinidad de la lectina DBA por el contenido de las CCAL en intestino delgado y ciego, mientras que en colon ascendente se observó CCAL con marcación fuerte y en colon transverso y descendente con marcación moderada. En el segundo y tercer tercio de gestación, la marcación fue fuerte o moderada en CCAL de intestino delgado, ciego y colon ascendente (Figura 46 a), mientras que en colon transverso y descendente esta fue leve (Figura 46 b). En crías y animales adultos, la marcación fue fuerte en duodeno, yeyuno e íleon (Figura 46 d), mientras que en ciego solo fue fuerte hasta los 15 días de edad para luego ser leve. En el colon ascendente se observó marcación leve en CCAL de todas las edades, excepto entre los 28 a 36 días de edad que fue moderado (Figura 46 c). Y en el caso de colon transverso y descendente se observó marcación variable dependiendo de la edad (Cuadro 34).

Cuadro 34: Patrón de unión de la lectina DBA en células caliciformes del epitelio intestinal de alpacas.

Etapa	Edad	Duodeno	Yeyuno	Íleon	Ciego	Colon Ascendente	Colon Transverso	Colon Descendente
Fetal	F1T	0	0	0	0	3	2	2
	F2Ta	3	2-3	2	3	2	2	2
	F2Tb	3	2-3	2	3	2	1	1
	F3T	2	2	1-2	2	2	1	1
Postnatal, días	RN	2	2	2	2	1	2	1
	1-7	2	2	2	2	1	1	2
	8-15	2	2	2	1	1	1-2	2
	16-21	2	2	2	1	1	1-2	1-2
	22-27	2	2	2	1	1	1	2
	28-36	2	2	2	1	2	1	2
	37-45	2	2	2	1	1	1	1
	Adultos	2	2	2	1	1	1	1

F1T: Fetos de primer tercio de gestación (46 a 110 días), F2Ta: Fetos de segundo tercio de gestación (111-164 días, F2Tb: Fetos de segundo tercio de gestación (165 a 229 días), F3T: Fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacidos.

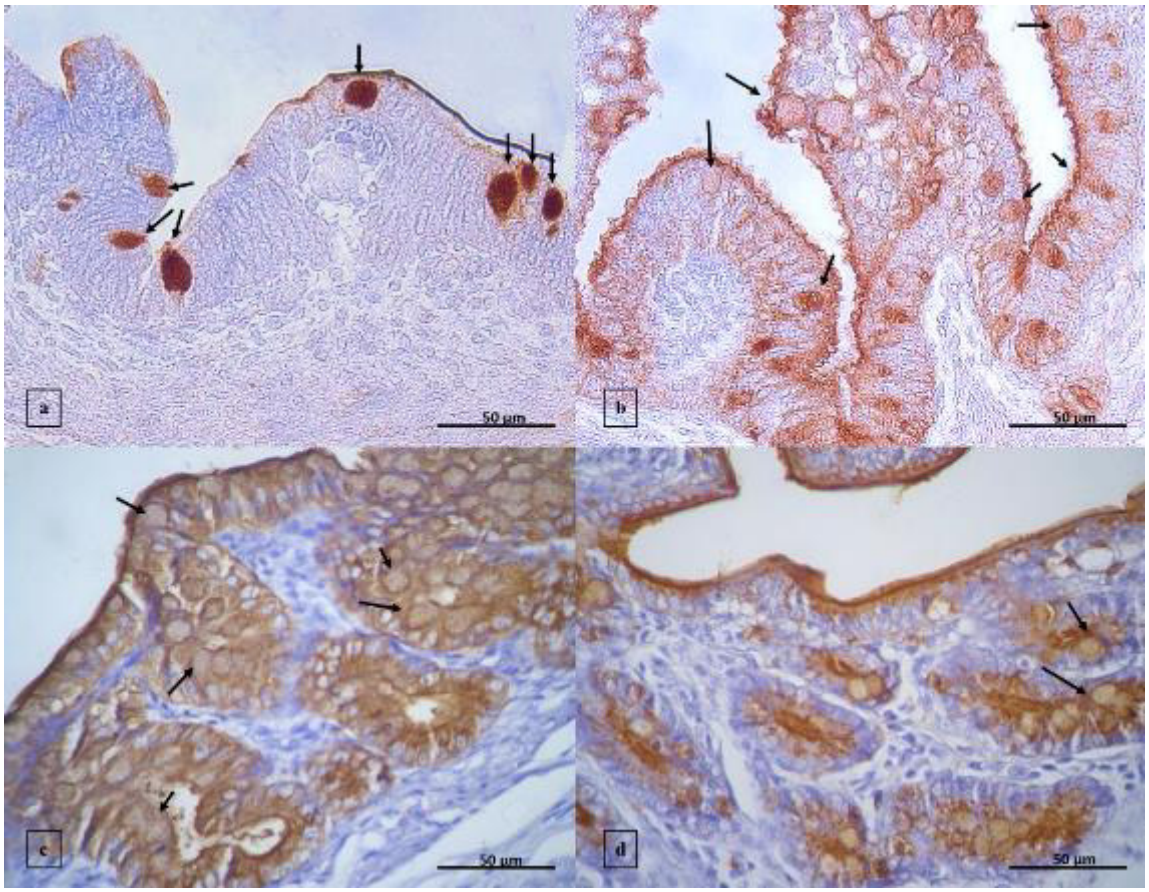


Figura 46: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina DBA. a) Duodeno, feto 119 días; b) colon ascendente, feto 216 días; c) colon ascendente, cría de 2 días; d) yeyuno, cría de 11 días; 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

GSL-1: es una lectina que tuvo afinidad desde el primer tercio de gestación a CCAL de intestino delgado, ciego y colon ascendente (Figura 47 a, b), perdiendo esta afinidad a partir de la segunda mitad del segundo tercio de gestación. En el caso de duodeno, en crías y adultos no se observó CCAL con marcación, mientras que en el resto de las porciones se observaron CCAL con marcación de 0 a 2 dependiendo de la edad. En fetos, y en colon ascendente de crías y adultos la marcación fue principalmente de forma granular (Cuadro 35, Figura 47 c, d).

SBA: se observó marcación desde el segundo tercio de gestación en intestino delgado y colon transverso, mientras que en ciego, colon ascendente y colon descendente se observó marcación desde el primer tercio de gestación. En el caso de duodeno, yeyuno e íleon, la marcación fue principalmente moderada, variando entre moderada a fuerte en algunas edades, mientras que en ciego, colon ascendente y colon transverso fue entre leve y moderada variando según edades. En el caso del colon descendente no se observó marcación en CCAL de fetos del tercer tercio de gestación y en crías desde el día 0 hasta los 15 días de edad, para luego observar marcación moderada (Cuadro 36, Figura 48).

SJA: En la etapa fetal no se observó marcación de CCAL en ninguna de las porciones intestinales, mientras que en ciego y colon de crías y adultos se observó marcación leve a moderada en algunas células en determinadas edades. En intestino delgado se observó marcación entre leve y moderado en algunas células en duodeno de crías de 37 a 45 días de edad, yeyuno de crías de 16 a 21 días y de 37 a 45 días. En íleon se observó marcación de CCAL en crías de 1 a 15 días de edad (Cuadro 37, Figura 49).

WGA: Las CCAL de duodeno tuvieron una marcación moderada para esta lectina desde el segundo tercio de gestación hasta la edad adulta. En el yeyuno se observó marcación moderada en fetos entre el segundo y tercer tercio de gestación; mientras que en crías se observó marcación leve entre los 8 a 27 días, en restantes edades, incluidos los adultos, la marcación fue negativa. En íleon la marcación fue generalmente leve, aunque fue negativa en fetos de la segunda mitad del segundo tercio de gestación y en recién nacidos (Figura 50 a, c). En ciego tampoco no se observó marcación en fetos del primer tercio y tercer tercio de gestación, en el resto de las edades la marcación fue generalmente leve (Figura 50 b, d). En el caso del colon ascendente, en el primer y segundo tercio de gestación se observó marcación moderada para luego ser leve en el resto de las edades. En colon transverso se observó marcación en CCAL recién a partir de los 16 días de edad post nacimiento, y en colon descendente la marcación fue variada desde el primer tercio de gestación, siendo generalmente moderada en la etapa postnatal (Cuadro 38).

Cuadro 35: Patrón de unión de la lectina GSL-1 en células caliciformes del epitelio intestinal de alpacas.

Etapa	Edad	Duodeno	Yeyuno	Íleon	Ciego	Colon Ascendente	Colon Transverso	Colon Descendente
Fetal	F1T	2-3*	2-3*	2-3	3*	2-3	0	0
	F2Ta	2-3*	3*	2-3*	2-3*	3*	2-3*	2*
	F2Tb	0-3	0-2	0	0	0	0	0
	F3T	0-1	0-2	0-1	0	1-2*	0	0
Postnatal, días	RN	0	0	0	0	0	0-1	0-1
	1-7	0	0	0	0-1	0	0-2	0-1
	8-15	0	0	0	0	0	0-1	0-2
	16-21	0	0	0	0-2	1*	0-2	0-2
	22-27	0	0-2	0	0-2	1*	0-2	0-1
	28-36	0	0-2	0	0-1	0-1*	0-2	0-1
	37-45	0	0-1	0	0-1	0-1	0	0-1
	Adultos	0	0-1	0-1	0-1	1*	0	0

F1T: Fetos de primer tercio de gestación (46 a 110 días), F2Ta: Fetos de segundo tercio de gestación (111-164 días, F2Tb: Fetos de segundo tercio de gestación (165 a 229 días), F3T: Fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacidos
*: Marcación en forma granular

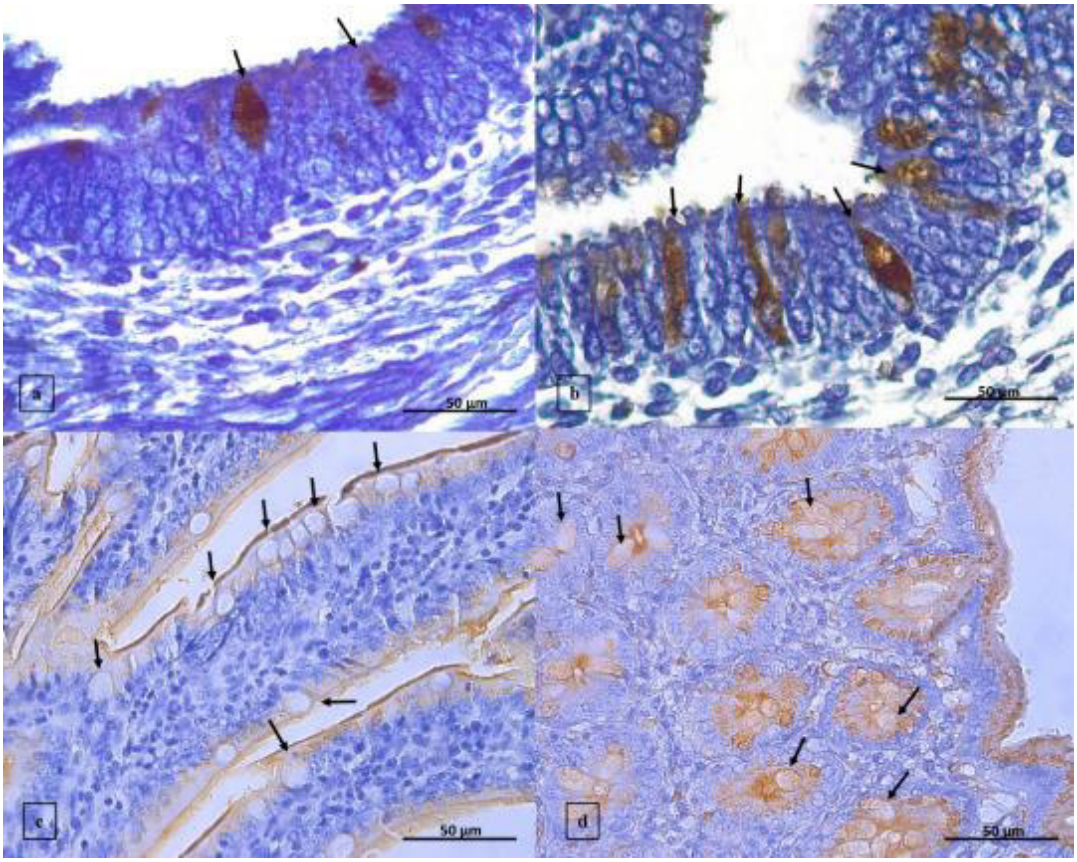


Figura 47: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina GSL-1. a) íleon, feto de 103 días, 63x; b) ciego, feto 124 días, 63x; c) colon descendente, cría de 43 días, 40x; d) íleon, cría de 45 días; 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

Cuadro 36: Patrón de unión de la lectina SBA en células caliciformes del epitelio intestinal de alpacas.

Etapa	Edad	Duodeno	Yeyuno	Íleon	Ciego	Colon Ascendente	Colon Transverso	Colon Descendente
Fetal	F1T	0	0	0	0-2	1-3	0	2
	F2Ta	1-3	2	1-2	2	3	1-2	1-3
	F2Tb	2	1	1	1	3	1	3*
	F3T	2	1-3	0-1	0-1	0	0-1	0
Postnatal, días	RN	2-3	3	2	1	0	1	0
	1-7	2-3	2	2	2	0-2	2	0
	8-15	2	2	2	1-2	1-2	1-2	2
	16-21	2	2	2	1-2	1-2	2	2
	22-27	3	2	2	1	2	1	1-2
	28-36	2	2	2	1	1	2	1-2
	37-45	2	2	2	2	2	2	1-2
	Adultos	2	2	2	2	2	2	1-2

F1T: Fetos de primer tercio de gestación (46 a 110 días), F2Ta: Fetos de segundo tercio de gestación (111-164 días, F2Tb: Fetos de segundo tercio de gestación (165 a 229 días), F3T: Fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido

*: Marcación en forma granular

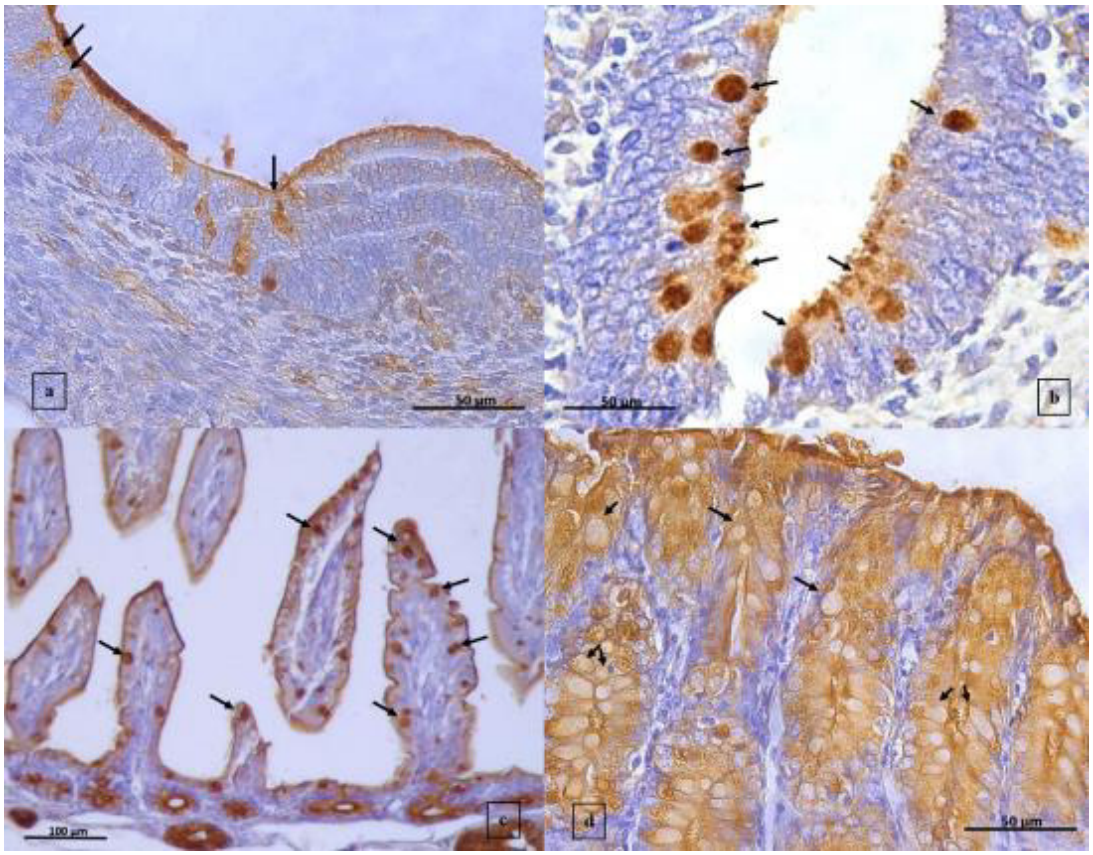


Figura 48: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina SBA. a) Ciego, feto de 80 días; b) colon ascendente, feto 119 días; c) duodeno, cría de 1 día; d) colon descendente, cría de 41 días; 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

Cuadro 37: Patrón de unión de la lectina SJA en células caliciformes del epitelio intestinal de alpacas.

Etapa	Edad	Duodeno	Yeyuno	Íleon	Ciego	Colon Ascendente	Colon Transverso	Colon Descendente
Fetal	F1T	0	0	0	0	0	0	0
	F2Ta	0	0	0	0	0	0	0
	F2Tb	0	0	0	0	0	0	0
	F3T	0	0	0	0	0	0	0
Postnatal, días	RN	0	0	0	0	0	0	0-1
	1-7	0	0	0-2	0-1	0-1	0	0-1
	8-15	0	0	0-1	0	0-1	0	0-1
	16-21	0	0-1	0	0	1	0-2	0-1
	22-27	0	0	0	0	0	0	0-1
	28-36	0	0	0	0-1	0-2	0-1	0-1
	37-45	0-2	0-2	0	0-1	0-2	0-2	0-1
	Adultos	0	0	0	0-1	0-2	0-1	0-1

F1T: Fetos de primer tercio de gestación (46 a 110 días), F2Ta: Fetos de segundo tercio de gestación (111-164 días, F2Tb: Fetos de segundo tercio de gestación (165 a 229 días), F3T: Fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacidos

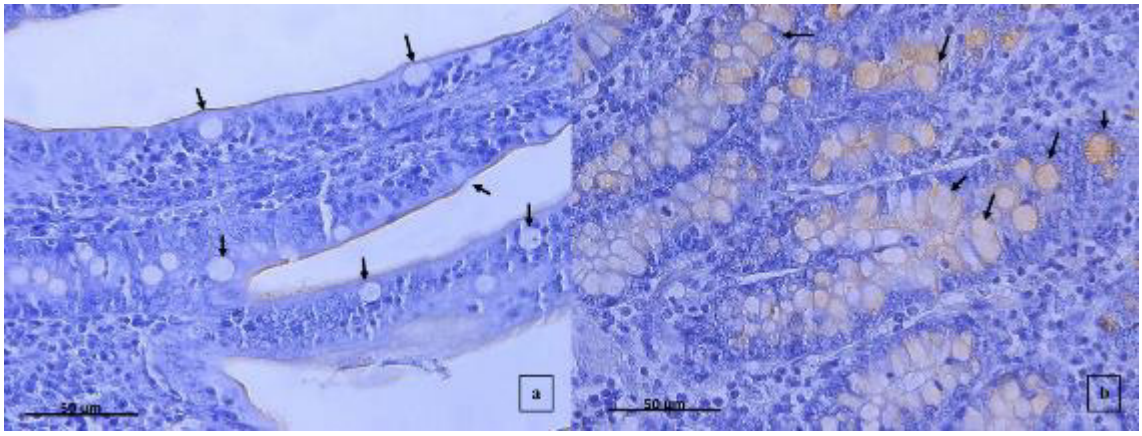


Figura 49: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina SJA. a) Íleon, cría de 37 días; b) colon ascendente, cría de 11 días; 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

Cuadro 38: Patrón de unión de la lectina WGA en células caliciformes del epitelio intestinal de alpacas.

Etapa	Edad	Duodeno	Yeyuno	Íleon	Ciego	Colon Ascendente	Colon Transverso	Colon Descendente
Fetal	F1T	0	0	0	0	2	0	1
	F2Ta	2	2	2	1-2	2	0	3
	F2Tb	2	2	0	1	1*	0	0
	F3T	2	2	1	0	1	0	1
Postnatal, días	RN	2	0	0	1	1	0	2
	1-7	2	0	1	1	1	0	1
	8-15	2	1	1	1-2	1	1	1-2
	16-21	2	1	1-2	1	1	1	2
	22-27	2	1	1	1	1	1	2
	28-36	2	0	1	1	1	1	2
	37-45	2	0	1	1	1	1	1
	Adultos	2	0	2	1	1	1	2

F1T: Fetos de primer tercio de gestación (46 a 110 días), F2Ta: Fetos de segundo tercio de gestación (111-164 días, F2Tb: Fetos de segundo tercio de gestación (165 a 229 días); F3T: Fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días); RN: recién nacidos
G: glicocalix, C: citoplasma, CCAL: células caliciformes
*: Marcación en forma granular

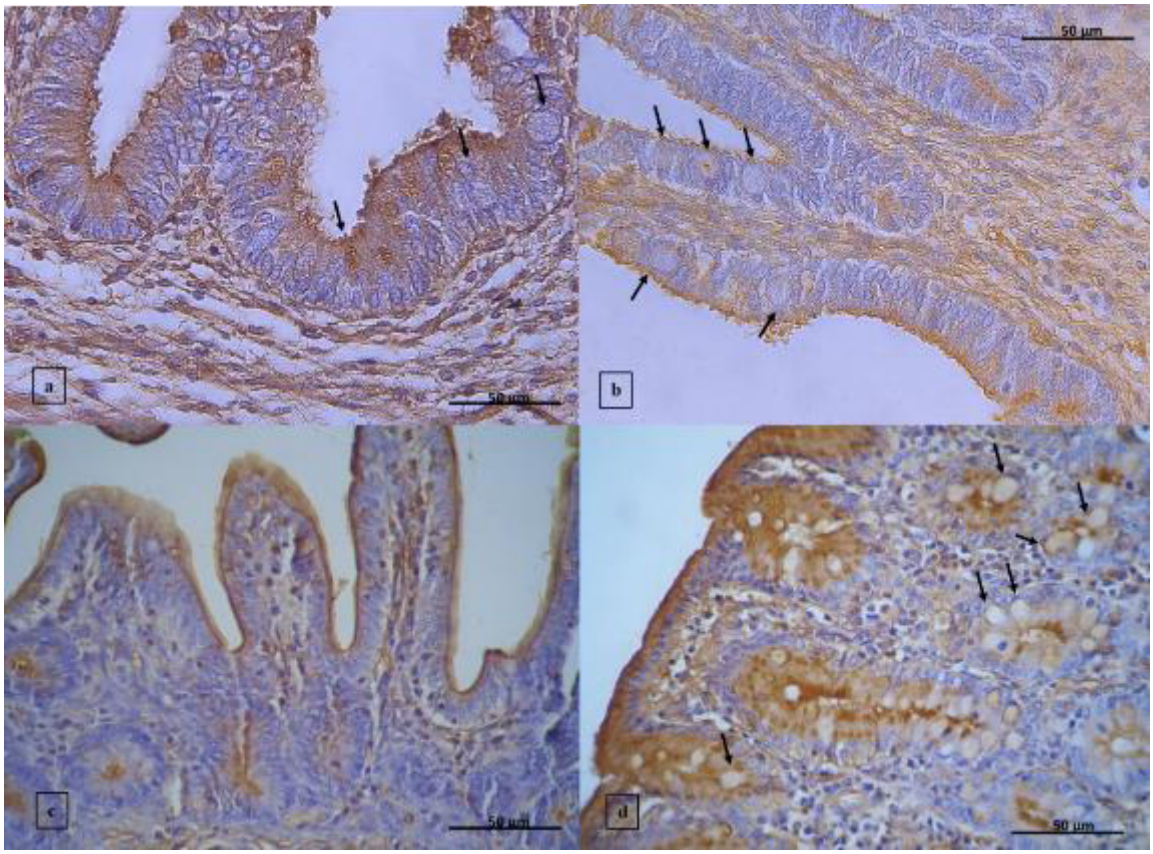


Figura 50: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina WGA.
a) íleon, feto de 141 días; b) ciego, feto de 216 días; c) íleon, cría de 7 días; d) ciego, cría de 42 días; 40x.
Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

SWGA: No se observó marcación en las CCAL de intestino de fetos de primer y segundo tercio de gestación, y en el tercer tercio solo se observó en yeyuno (moderado y granular) y en ciego (de leve a moderado) (Figura 51a). En la etapa postnatal, en duodeno y yeyuno la marcación fue variable de leve a moderado principalmente con ausencia de marcación en algunas edades, mientras que en íleon no hubo marcación en ninguna de las edades (Figura 51 d). En el ciego se observó marcación a partir de los 16 días siendo esta entre leve y moderado (Figura 51c), mientras que en colon ascendente la marcación fue entre leve a fuerte en toda la etapa postnatal (Figura 51b). En colon transverso y descendente la marcación fue variable, con ausencia de marcación en algunas edades (Cuadro 39).

Cuadro 39: Patrón de unión de la lectina SWGA en células caliciformes del epitelio intestinal de alpacas.

Etapa	Edad	Duodeno	Yeyuno	Íleon	Ciego	Colon Ascendente	Colon Transverso	Colon Descendente
Fetal	F1T	0	0	0	0	0	0	0
	F2Ta	0	0	0	0	0	0	0
	F2Tb	0	0	0	0	0	0	0
	F3T	0	2-3*	0	0-1	0	0	0
Postnatal, días	RN	0	0-2	0	0	1	0	0
	1-7	0	0	0	0	2	0-1	0-1
	8-15	0-2	0	0	2	1-2	0	0
	16-21	3	0-2	0	1-2	2-3	0-2	0-1
	22-27	0-1	0	0	2	3	0-1*	0
	28-36	0-2	0	0	1	2	0	0
	37-45	0-2	0-2	0	1	0-3	0-1	0-2
	Adultos	2	0-2	0	1	0-2	0	0-2

F1T: Fetos de primer tercio de gestación (46 a 110 días), F2Ta: Fetos de segundo tercio de gestación (111-164 días, F2Tb: Fetos de segundo tercio de gestación (165 a 229 días); F3T: Fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días); RN: recién nacido

*: Marcación en forma granular

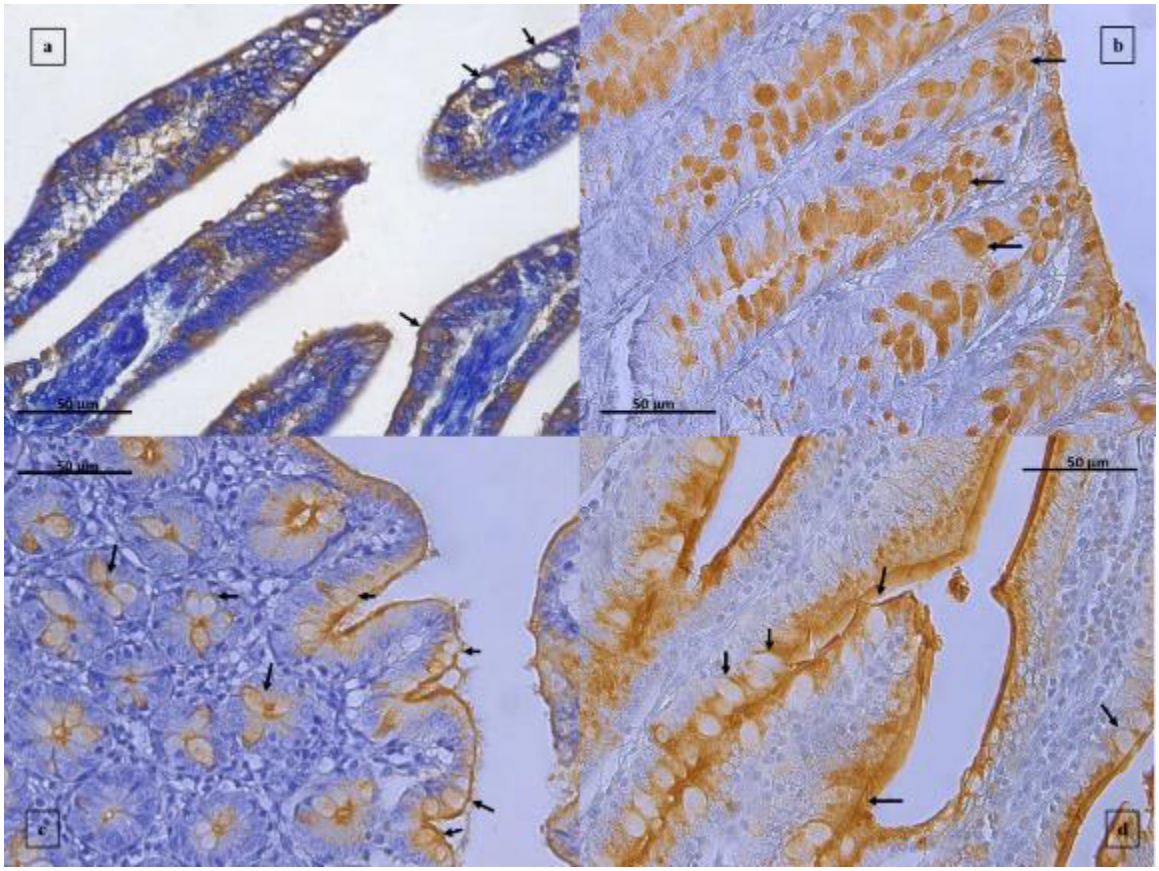


Figura 51: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina SWGA. a) íleon, feto de 317 días; b) colon ascendente, cría de 5 días; c) ciego, cría de 37 días; d) íleon, cría de 45 días; 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

UEA-1: En la etapa fetal se observó marcación variable en CCAL de intestino delgado y ciego desde el segundo tercio de gestación y desde el primer tercio de gestación en colon descendente. En colon transverso se observó marcación recién en el tercer tercio de gestación, mientras que en colon ascendente la marcación fue fuerte desde el primer tercio de gestación hasta el final del segundo tercio (Figura 52 a, b). En la etapa postnatal las CCAL de duodeno y colon presentaron marcación variable en las diferentes edades, con ausencia de marcación en algunas edades, siendo esta marcación en algunas células y por zonas principalmente (Figura 52 c, d). En yeyuno no se observó marcación de CCAL en ninguna edad y en íleon solo en crías de 8 a 15 días. En el caso de ciego se observó marcación leve desde los 8 días de edad (Cuadro 40).

LCA: en la etapa fetal, las CCAL presentaron marcación de moderada a fuerte y de forma granular en intestino delgado y grueso, principalmente en primer tercio y la primera mitad del segundo tercio de gestación. A partir de la segunda mitad del segundo tercio de gestación hasta el final de la gestación se observó marcación solo en algunas CCAL (Figura 53a, b), mientras que en la etapa postnatal solo se observó marcación en CCAL de duodeno de recién nacido y de todo el intestino delgado de animales adultos (Cuadro 41, Figura 53c, d).

Cuadro 40: Patrón de unión de la lectina UEA-1 en células caliciformes del epitelio intestinal de la alpaca.

Etapa	Edad	Duodeno	Yeyuno	Íleon	Ciego	Colon Ascendente	Colon Transverso	Colon Descendente
Fetal	F1T	0	0	0	0	2	0	0-2
	F2Ta	0-1	0-2	0-2	0-2	2	0	0-1
	F2Tb	0-1	0-2	0-2	2	2*	0	0
	F3T	0-1	2	0-3	0-3	0-2	0-2	0-2
Postnatal, días	RN	0	0	0-3	0	0	3[2,3]	2[2]
	1-7	0-2	0	0-3	0	0-3[2]	2-3[2]	2[2]
	8-15	1-3	0	0-1	1	1-2[1]	0-2[2]	2[2]
	16-21	0	0	0	1	2[1]	0-2[2]	0-1
	22-27	0	0	0	1	0	0	0-2
	28-36	0	0	0	1	0-3	0	0
	37-45	2	0	0	1	0	0-2[2]	0
	Adultos	2	0	0	1	0	0	0

F1T: Fetos de primer tercio de gestación (46 a 110 días), F2Ta: Fetos de segundo tercio de gestación (111-164 días, F2Tb: Fetos de segundo tercio de gestación (165 a 229 días); F3T: Fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días); RN: recién nacido

*: Marcación en forma granular

[1]: marcación por zonas

[2]: marcación solo en algunas células de las criptas

[3]: marcación solo en criptas superficiales

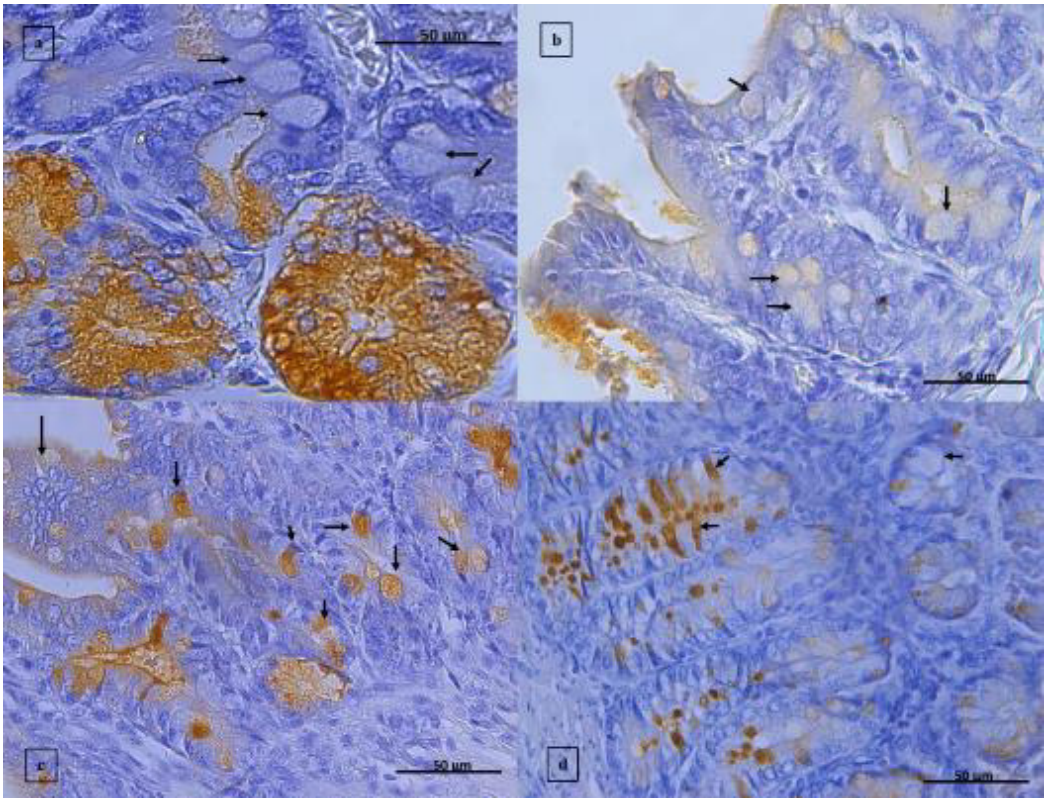


Figura 52: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina UEA-1. a) duodeno, feto de 334 días, 63x; b) colon ascendente, feto de 330 días, 40x; c) duodeno, cría de 7 días, 40x; d) colon transverso, cría de 39 días, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

Cuadro 41: Patrón de unión de la lectina LCA en células caliciformes del epitelio intestinal de alpacas.

Etapa	Edad	Duodeno	Yeyuno	Íleon	Ciego	Colon Ascendente	Colon Transverso	Colon Descendente
Fetal	F1T	2-3*	2-3*	2*	2*	0	0-2	2
	F2Ta	2-3*	2-3*	2-3	1-2	1-3	2*	2-3
	F2Tb	0-2	0-2	1-2	0-2	0-2	2	0-2
	F3T	0-2	0-2	0-3	0-1	0-3	0	0-1
Postnatal, días	RN	2	0	0	0	0	0	0
	1-7	0	0	0	0	0	0	0
	8-15	0	0	0	0	0	0	0
	16-21	0	0	0	0	0	0	0
	22-27	0	0	0	0	0	0	0
	28-36	0	0	0	0	0	0	0
	37-45	0	0	0	0	0	0	0
	Adultos	0-1	0-1	0	0	0	0	0

F1T: Fetos de primer tercio de gestación (46 a 110 días), F2Ta: Fetos de segundo tercio de gestación (111-164 días, F2Tb: Fetos de segundo tercio de gestación (165 a 229 días); F3T: Fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días); RN: recién nacido

*: Marcación en forma granular

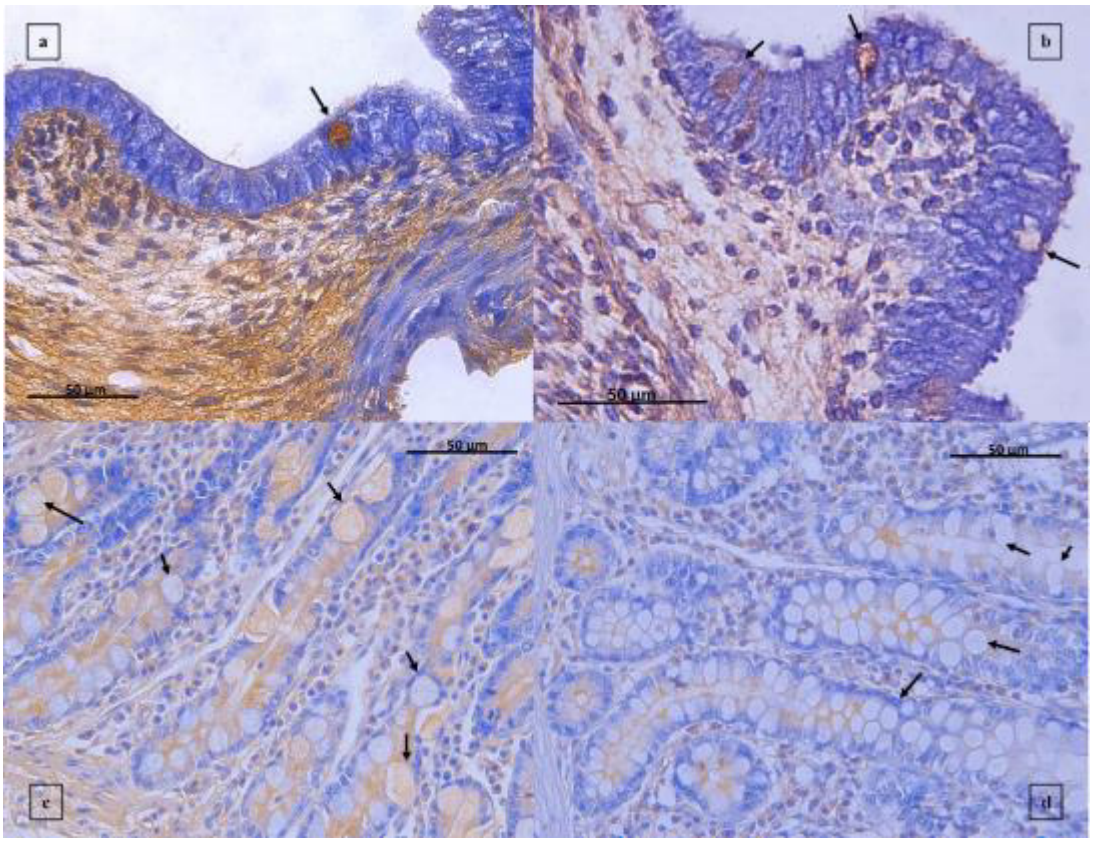


Figura 53: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina LCA. a) Yeyuno, feto de 80 días, 40x; b) colon ascendente, feto de 124 días, 63x; c) íleon, animal adulto, 40x; d) ciego, animal adulto, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

Con A: Esta lectina no presentó afinidad por el contenido de las CCAL en todas las edades y porciones intestinales (Figura 54).

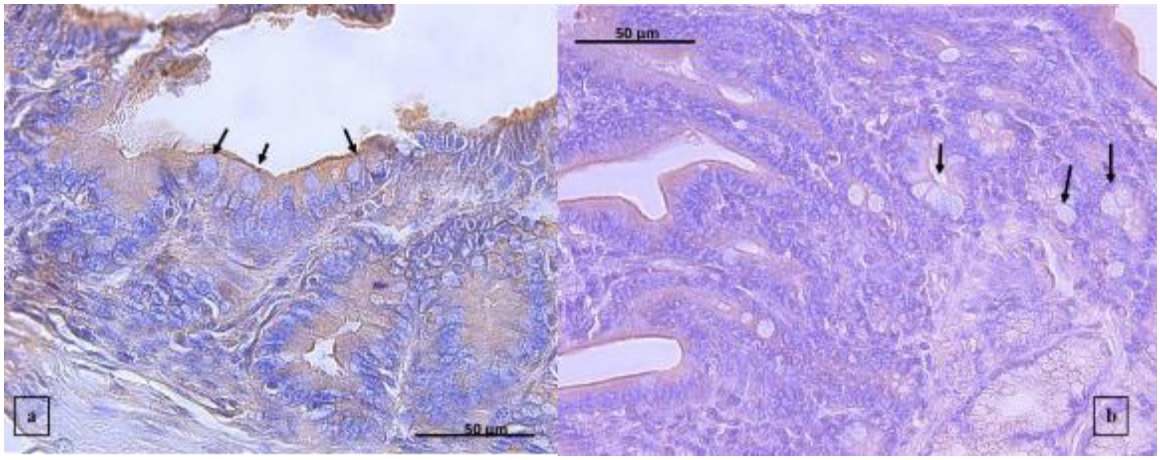


Figura 54: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina Con A. a) colon ascendente, feto de 334 días; b) duodeno, cría de 30 días; 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

PNA: la lectina PNA no tuvo afinidad por el contenido de las CCAL de intestino delgado y grueso en ninguna de las edades estudiadas (Figura 55).

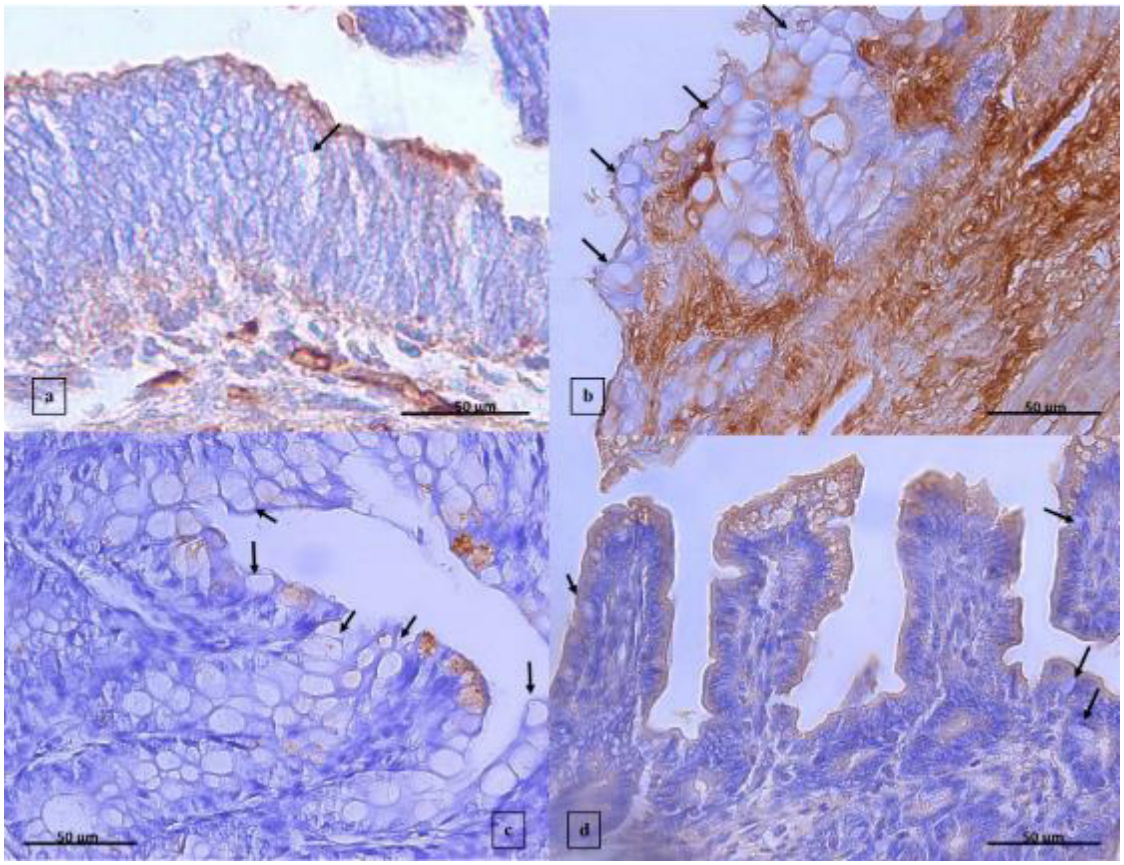


Figura 55: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina PNA. a) yeyuno, feto de 46 días, 63x; b) colon transverso, feto de 334 días, 40x; c) colon ascendente, cría de 2 días, 40x; d) yeyuno, cría de 3 días, 40x. Coloración de contraste Hematoxilina de Harris.

PSA: con esta lectina se observó marcación de las CCAL en todas las porciones intestinales, excepto colon ascendente, desde el primer tercio de gestación. Esta marcación fue moderada a fuerte en el primer tercio y primera mitad del segundo tercio, para luego pasar a ser variable, con células marcadas y otras no marcadas (Figura 56a, b). En la etapa postnatal, se observó marcación variable en todas las edades en duodeno y colon descendente, (Figura 56c), mientras que en yeyuno se observaron algunas células marcadas desde los 28 días de edad y en íleon solo en animales adultos (Figura 56d). En ciego se observó marcación leve en animales recién nacidos, en crías de 28 a 36 días y adultos; en colon descendente esta marcación se observó en crías de 1 a 7 días y adultos, y en colon transverso en animales recién nacidos y adultos (Cuadro 42).

Cuadro 42: Patrón de unión de la lectina PSA en células caliciformes del epitelio intestinal de alpacas.

Etapa	Edad	Duodeno	Yeyuno	Íleon	Ciego	Colon Ascendente	Colon Transverso	Colon Descendente
Fetal	F1T	2	2	2	2	0	2-3	2
	F2Ta	2-3	2	2-3*	2-3	2-3	2-3*	2*
	F2Tb	1	2	0-3	0-2	0-2	0-2	0-1
	F3T	0-2	0-2	0-3	0-1	0-3	0-2	0-1
Postnatal, días	RN	0-1	0	0	1	0	1	0-1
	1-7	0-1	0	0	0	0-1	0	0-2
	8-15	0	0	0	0	0	0	0-2
	16-21	0-1	0	0	0	0	0	0-2
	22-27	0-1	0	0	0	0	0	0-2
	28-36	0	0-1	0	1	0	0	0-1
	37-45	0	0-1	0	0	0	0	0-1
	Adultos	0-1	0-1	0-1	0-1	0-1	1	0-1

F1T: Fetos de primer tercio de gestación (46 a 110 días), F2Ta: Fetos de segundo tercio de gestación (111-164 días, F2Tb: Fetos de segundo tercio de gestación (165 a 229 días), F3T: Fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacidos

*: Marcación en forma granular

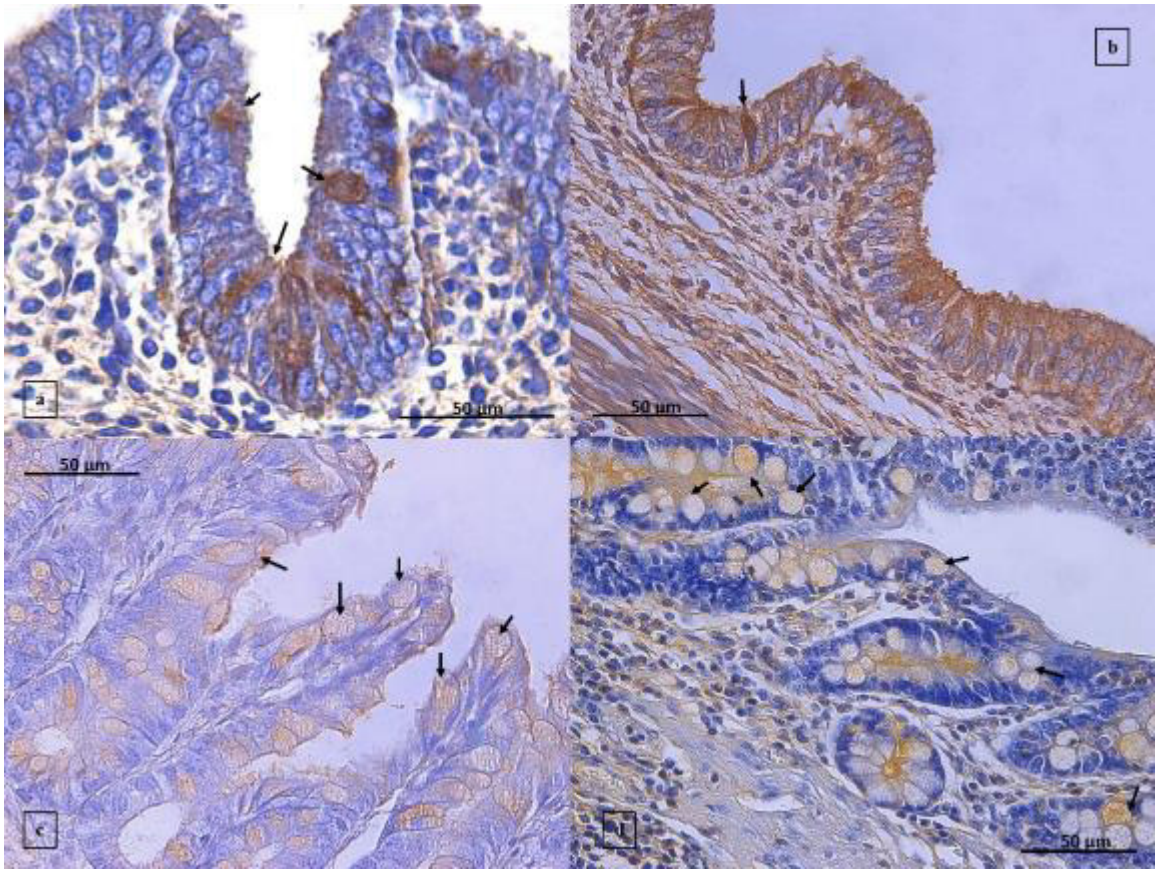


Figura 56: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina PSA.
a) Yeyuno, feto de 80 días, 63x; b) ciego, feto de 141 días, 40x; c) colon descendente, cría recién nacida, 40x; d) íleon, animal adulto, 40x. Coloración de contraste Hematoxilina de Harris.

PHA-E: esta lectina presento afinidad por las CCAL desde el primer tercio de gestación en intestino delgado y grueso, excepto en íleon y colon ascendente. En duodeno, colon transverso y descendente, la marcación fue de leve a moderada, mientras que en yeyuno y colon ascendente fue leve en algunas células. Las CCAL del íleon solo presentaron marcación granular en fetos de la primera mitad del segundo tercio de gestación y en ciego, en este último sector se observó esta marcación en el primer y segundo tercio de gestación (Figura 57 a, b). En la etapa postnatal solo se encontró marcación en duodeno de crías recién nacidas y entre los 16 a 27 días de edad (Cuadro 43, Figura 57 c, d).

PHA-L: no se observó marcación de CCAL con esta lectina en ninguna porción ni edad (Figura 58).

Cuadro 43: Patrón de unión de la lectina PHA-E en células caliciformes del epitelio intestinal de alpacas.

Etapa	Edad	Duodeno	Yeyuno	Íleon	Ciego	Colon Ascendente	Colon Transverso	Colon Descendente
Fetal	F1T	1-2	2	0	2*	0	2*	0
	F2Ta	0-2	1*	2*	1*	1-2*	1-2*	1-2*
	F2Tb	1	0	0	0	0-1	2	1
	F3T	1	0-1	0	0	0-1	2-3	2
Postnatal, días	RN	2	0	0	0	0	0	0
	1-7	0	0	0	0	0	0	0
	8-15	0	0	0	0	0	0	0
	16-21	1-2	0	0	0	0	0	0
	22-27	0-1	0	0	0	0	0	0
	28-36	0	0	0	0	0	0	0
	37-45	0	0	0	0	0	0	0
	Adultos	0	0	0	0	0	0	0

F1T: Fetos de primer tercio de gestación (46 a 110 días), F2Ta: Fetos de segundo tercio de gestación (111-164 días, F2Tb: Fetos de segundo tercio de gestación (165 a 229 días); F3T: Fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días); RN: recién nacidos

*: Marcación en forma granular

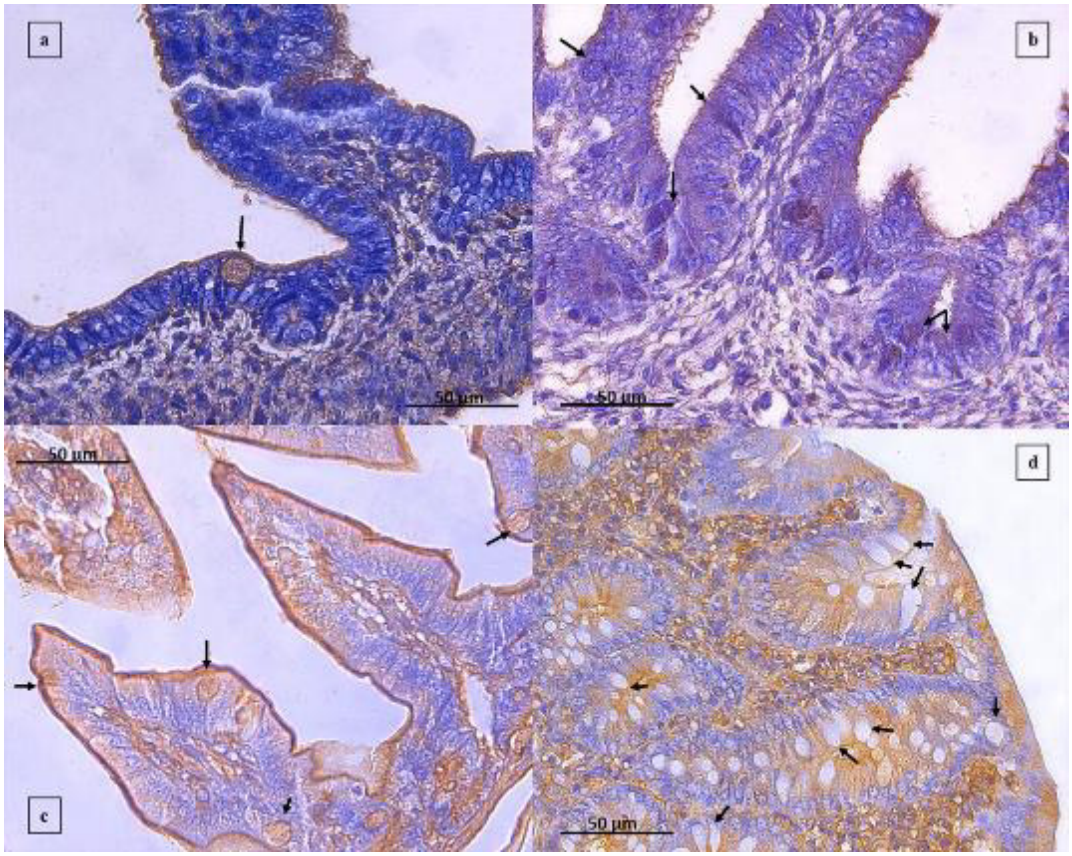


Figura 57: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina PHA-E. a) Duodeno, feto de 80 días; b) colon ascendente, feto de 230 días; c) duodeno, cría recién nacida; d) colon descendente, cría de 42 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

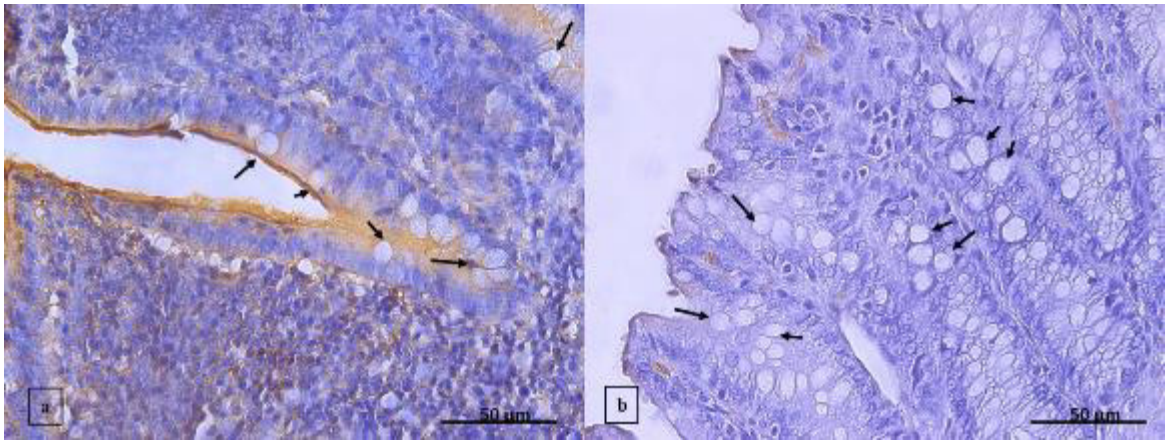


Figura 58: Células caliciformes en el epitelio intestinal de la alpaca marcadas con lectina PHA-L. a) Íleon, cría de 21 días; b) colon transverso, cría de 31 días; 40x. Coloración de transporte: Hematoxilina de Harris.

5.3.3 Células de Paneth (CP)

En el presente estudio se identificó la presencia de CP, así mismo se determinaron sus características morfológicas, morfométricas y el número de ellas en el intestino delgado.

5.3.3.1 Características morfológicas

Al observar las láminas coloreadas con H-E, no se reconocieron algunas de las características típicas observadas en las CP de otras especies. Presentaron una coloración eosinofílica, de forma columnar alta, ubicadas en la base de las criptas de Lieberkühn, pero no se reconocieron los gránulos típicos que se observan en otras especies. Mediante esta coloración, se reconoció un número muy reducido de CP en las diferentes porciones del intestino delgado, ciego y colon ascendente a partir de los 293 días de gestación, en ciego y colon no se las observa en la etapa postnatal. (Figura 59a, b).

Con la coloración tricrómica de Masson se reconoció un mayor número de CP, ubicadas en la base de las criptas de Lieberkühn de las 3 porciones del intestino delgado y los gránulos característicos se observaron de color rojizo. Tenían forma columnar alta con un núcleo en la base de la célula y los gránulos distribuidos en todo el citoplasma (Figura 59c, d). Mediante la coloración de Floxina Tartrazina, se evidenciaron CP desde el último tercio de gestación, con gránulos coloreados de rojo intenso, típicos de esta coloración (Figura 59e, f). Con la coloración PAS-AA no se pudieron evidenciar CP (Figura 59g, h).

Mediante lectinhistoquímica, se observó marcación fuerte de los gránulos con la lectina SBA (Figura 60a), marcación leve con la lectina Con A (Figura 60b) y marcación moderada con la lectina PNA (Figura 60c, d), mientras que con el resto de las lectinas no existió marcación.

En las láminas preparadas mediante inmunohistoquímica para la determinación de lisozima, se pudieron reconocer con facilidad las CPs positivas, tanto por la presencia de gránulos abundantes de color marrón dorado oscuro en el citoplasma como por su distribución en la base de las criptas de Lieberkühn. Las células positivas a lisozima se reconocieron desde los 293 días de gestación. Los gránulos de lisozima se observaron cómo estructuras vesiculares de borde irregular que pueden alcanzar al perinúcleo o que se encontraban en contacto con la membrana nuclear. Los núcleos son casi esféricos desplazados hacia la parte basal de la célula, y la forma de la célula es columnar alta, diferente a lo que se observa en otras especies como rata, ratón, humanos, entre otros, en las que es marcadamente piramidal (Figura 60e, f, g).

En las láminas preparadas con anti-anticuerpo PCNA, se observaron en la base de las criptas de Lieberkühn, células compatibles con CP, las cuales no presentaban marcación a diferencia de las células madre que se encuentran en esa región y son positivas para este anticuerpo, lo cual nos indica que las CP no están en proceso de multiplicación celular, indicando que son células que han terminado su proceso de diferenciación celular (Figura 60h).

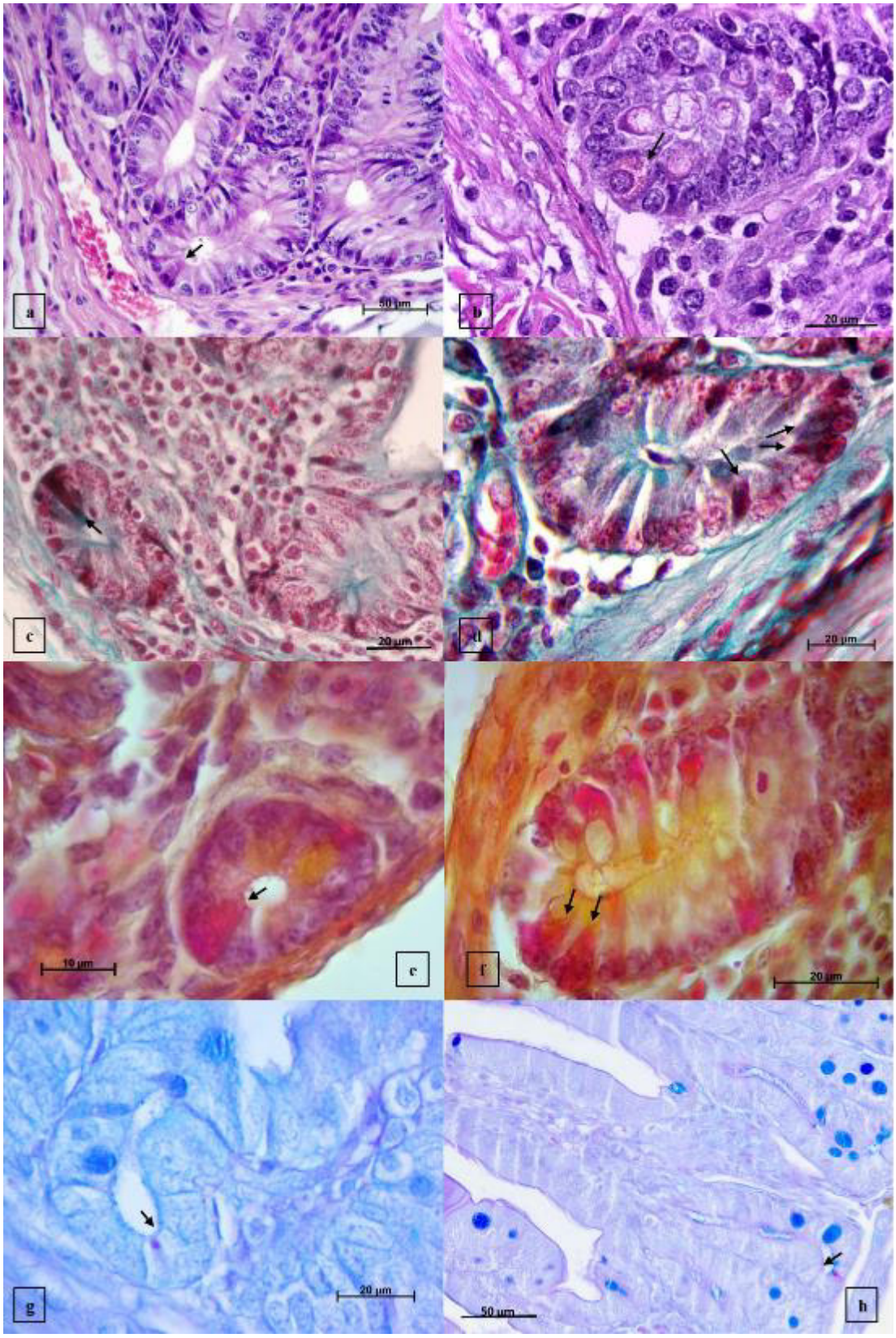


Figura 59: Células de Paneth en epitelio intestinal de alpacas. Coloración Hematoxilina Eosina. a) yeyuno, 7 días, 40x; b) duodeno, 37 días, 100x. Tricrómico de Masson: c) yeyuno, 4 días, 40x; d) íleon, 41 días, 100x. Floxina Tartrazina: e) yeyuno, 3 días, 100x; f) duodeno, 45 días, 100x. PAS-AA: g) duodeno, 21 días, 40x; h) yeyuno, 1 día, 100x.

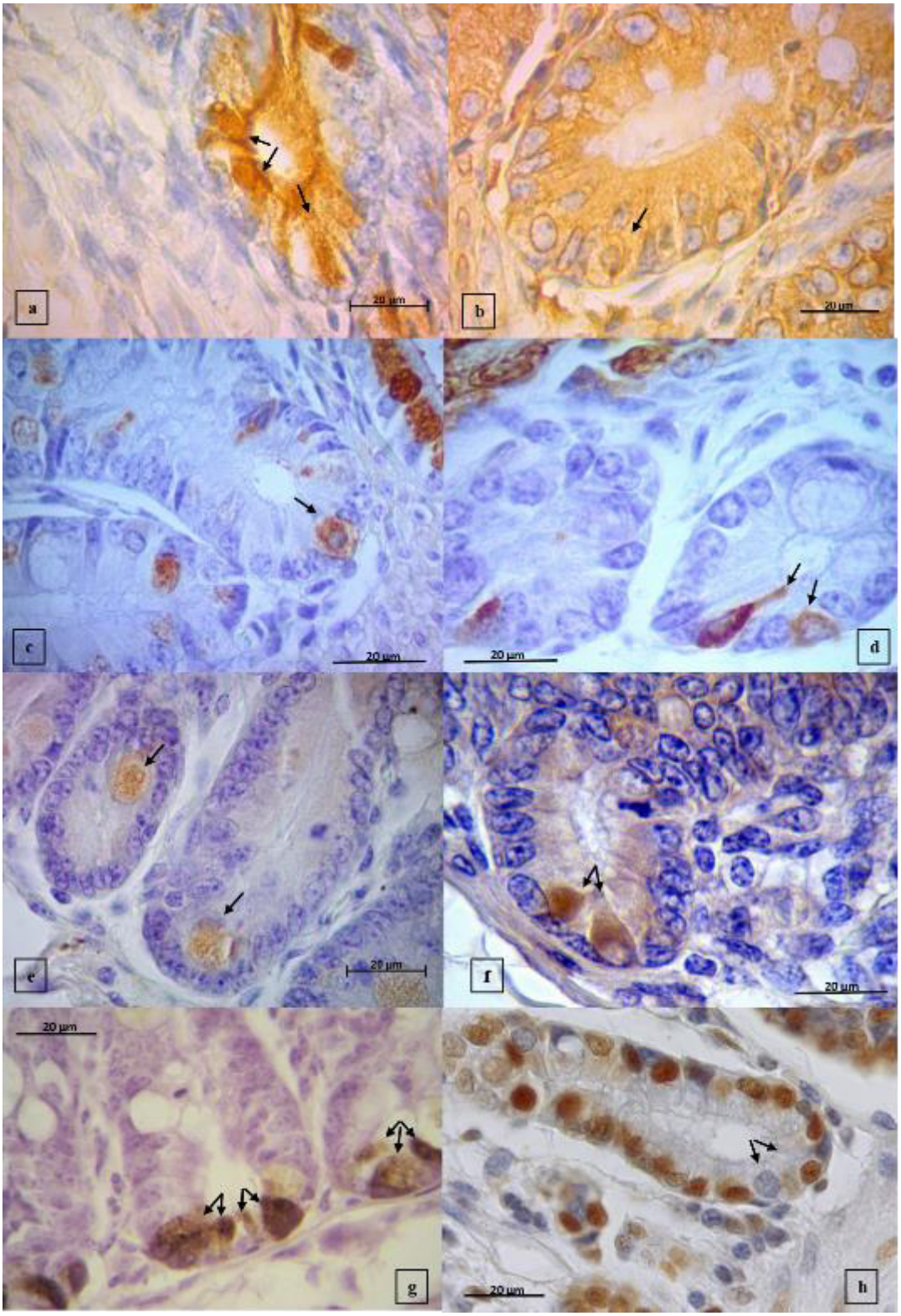


Figura 60: Marcación de gránulos de células de Paneth. Lectinhistoquímica: a) lectina SBA, duodeno, cría recién nacida; b) lectina Con-A, duodeno, cría de 45 días; lectina PNA: c) íleon, cría de 45 días; d) yeyuno, cría de 45 días. Inmunomarcación de lisozima. Las flechas muestran células positivas con gránulos de células de Paneth positivos e) yeyuno de feto de 330 días de gestación; f) íleon de cría recién nacida, g) íleon de cría de 15 días. Inmunomarcación de antígeno de proliferación celular nuclear (PCNA), h) las flechas muestran células con inmunomarcación negativa en duodeno de animal adulto. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris. 100x.

5.3.3.2 Estudio morfométrico

En la etapa fetal, las células más grandes se observaron en el duodeno, seguido del yeyuno y finalmente del íleon, este resultado se basa en el estudio de eje mayor, eje menor y área. Mientras que al nacimiento se pudieron observar valores de área y eje mayor similares en duodeno y yeyuno, y conforme avanza en edad las células del íleon van incrementando su tamaño hasta los 45 días de edad, momento en que en las tres porciones intestinales se observaron valores similares para las 3 variables morfométricas, mientras que en la etapa adulta se encontraron células más pequeñas que en crías, pero iguales entre las 3 porciones intestinales (Cuadro 44).

5.3.3.3 Número de células de Paneth

En la etapa fetal se pudieron observar CP desde los 293 días de gestación, en igual en las tres porciones de intestino delgado. En cambio, en las otras edades fetales estudiadas se encuentra un mayor número de CP en el duodeno. Al nacimiento, el duodeno presenta el mayor número de CP por cripta de Lieberkühn (2.95±0.89), este resultado cambia conforme avanzan en edad los animales, y en el grupo de 18 a 21 días el íleon presenta más CP que el duodeno y yeyuno. En duodeno el número de CP va en aumento hasta el grupo de 28 a 36 días de edad, mientras que en yeyuno e íleon se mantiene constante y en la edad adulta hay un menor número que en crías y es similar a la etapa fetal (Cuadro 45).

Cuadro 44: Morfometría de células de Paneth en intestino delgado de alpacas.

Etapa		Fetal					Postnatal						
Edad, días		293	317	325	330	RN	1-7	8-15	16-21	22-27	28-36	37-45	Adultos
Eje mayor (µm)	D	20.1±3.7[a]	18.1±3.8[a]	20.9±4.1[a*]	18.1±4.4[a]	20.2±4.0[a]	18.7±3.3[a*]	19.7±3.6[a]	19.9±3.6[a]	21.1±3.6[a]	21.3±3.8[a]	23.6±4.7[b]	16.2±2.4[c]
	Y	17.9±3.2[a]	15.7±2.5[a]	15.8±2.0[a]	17.3±1.8[a]	22.1±3.9[b]	22.0±4.7[b]	22.0±6.1[b]	23.1±5.0[c]	22.3±4.5[b]	24.2±4.5[c]	22.9±4.0[c]	17.2±1.9[a]
	I	14.3±1.7[a*]	16.4±3.2[a]	16.6±1.6[a]	16.8±2.4[a]	17.6±3.9[a*]	21.3±5.6[b]	22.3±4.2[b]	21.7±4.2[b]	24.6±4.7[c*]	25.8±6.0[c]	24.2±4.5[c]	16.4±2.9[a]
Eje menor (µm)	D	6.8±1.1[a]	7.9±1.3[a]	8.9±1.6[b*]	8.5±1.4[b*]	6.9±1.6[a*]	6.6±1.5[a]	7.8±3.1[a]	6.7±1.4[a]	8.9±1.2[b]	7.8±1.8[a*]	8.0±1.9[b]	7.7±1.4[a]
	Y	5.5±0.9[a*]	8.8±0.9[c]	7.1±1.3[b]	7.1±1.2[b*]	8.4±1.7[c*]	7.7±2.3[c*]	7.5±1.8[b]	8.2±1.7[c*]	9.1±1.7[c]	8.3±1.8[c*]	8.5±1.8[c]	7.7±0.7[b]
	I	6.5±0.7[b]	5.9±1.1[a*]	6.2±0.5[a]	5.7±1.1[a]	5.3±0.8[a]	6.2±1.8[a]	6.7±1.3[b]	6.9±1.5[b]	8.0±1.5[c]	6.6±1.9[b*]	7.9±1.8[c]	7.4±0.8[c]
Área (μm^2)	D	135.9±46.8[a*]	138.5±30.7 [a]	196.2±63.7[c*]	149.6±33.9[a]	152.9±43.2[b]	138.6±35.5[a]	154.9±47.2[b]	142.9±36.9[a]	202.6±43.1[c]	172.1±58.6[b]	193.1±52.7[c]	135.4±37.6[a]
	Y	91.6±22.7[a]	139.1±26.1[a]	105.9±19.1[a]	130.9±31.5[a]	164.5±37.1[b]	157.1±62.0[b*]	157.0±67.4[b]	179.6±59.2[c*]	194.6±47.2[c]	189.8±54.1[c]	180.2±44.2[c]	119.5±10.7[a]
	I	90.6±13.7[a]	94.0±20.1[a*]	94.8±7.5[a]	89.3±20.8[a*]	88.5±26.8[a*]	136.2±59.7[a]	147.8±35.8[a*]	145.1±40.5[a]	191.7±48.7[b]	167.6±91.1[b]	183.6±64.5[b]	111.9±14.5[a]

RN: Recién nacido, D: duodeno, Y: yeyuno, I: íleon
Letras diferentes, indican diferencias estadísticas entre columnas ($p<0.05$)
* indican diferencias estadísticas entre filas ($p<0.05$)

Cuadro 45: Número de células de Paneth en intestino delgado de alpacas.

Etapa	Edad, días	Duodeno	Yeyuno	Íleon
Fetal	293	0.95±0.69[1a]	1.33±0.92[1,2a]	1.20±0.83[1a]
	317	1.35±0.75[1,2a]	0.80±0.52[1b]	1.15±0.81[1ab]
	325	1.53±0.70[1,2a]	0.95±0.45[1b]	1.20±0.70[1ab]
	330	1.90±0.90[1,2,3a]	1.13±0.73[1ab]	1.35±0.75[1b]
Postnatal	Recién Nacido	2.95±0.89[4a]	1.34±0.56[1,2b]	1.30±0.57[1b]
	1-7	1.46±1.07[1,2a]	1.25±0.70[1,2a]	1.92±1.03[1,2,3b]
	8-15	2.15±1.37[2,3,4a]	2.15±1.45[3a]	2.00±1.30[1,2,3a]
	16-21	2.26±1.67[3,4a]	2.14±1.09[3a]	2.81±1.39[3b]
	22-27	2.60±1.15[3,4a]	1.88±1.25[2,3b]	2.63±1.15[2,3a]
	28-36	3.00±1.56[4a]	2.24±1.19[3b]	2.72±0.96[2,3a]
	37-45	2.33±1.22[2,3,4a]	2.08±1.26[3ab]	1.97±1.14[1,2,3b]
	Adultos	1.05±0.55[1a]	1.23±0.90[1,2a]	1.80±0.42[1,2b]

RN: recién nacido, X: media, DS: desvío estándar
Número diferentes, indican diferencias estadísticas entre filas ($p<0.05$) edades
Letras diferentes, indican diferencias estadísticas entre columnas ($p<0.05$) porciones

5.3.4 Células Enteroendocrinas (CEE)

En este estudio se identificaron 4 tipos de CEE en el epitelio intestinal de alpacas.

5.3.4.1 Células L

Las células L fueron observadas en el epitelio intestinal desde el duodeno hasta el colon descendente, desde la etapa fetal hasta la edad adulta, siendo las células enteroendocrinas más numerosas de las células estudiadas. Su ubicación es principalmente en la zona media de las vellosidades y zona media y superficial de las criptas en el intestino grueso (Figura 61). En yeyuno y colon descendente desde los 80 días, mientras que en el resto de las porciones del intestino delgado a partir de los 141 días y en ciego, colon ascendente y transverso desde los 116 días de gestación (Cuadro 46)

En duodeno se determinó una media y moda de 0 en la etapa fetal y de 1 desde los recién nacidos, con un rango de 0 a 3 células en la etapa fetal y 0 a 2 en crías y adultos. En yeyuno la media y moda es de 1, con rangos de células por cripta de 0 a 3 o 0 a 4 por edad. En el caso de íleon, colon ascendente y descendente la mediana y moda es de 1 con rangos de células de 0 a 4 principalmente en la etapa fetal. En el caso de ciego y colon transverso la media y moda en algunas edades es 1 y con rangos celulares máximos de 0 a 4 en etapa fetal y 0 a 3 en crías y adultos (Cuadro 46).

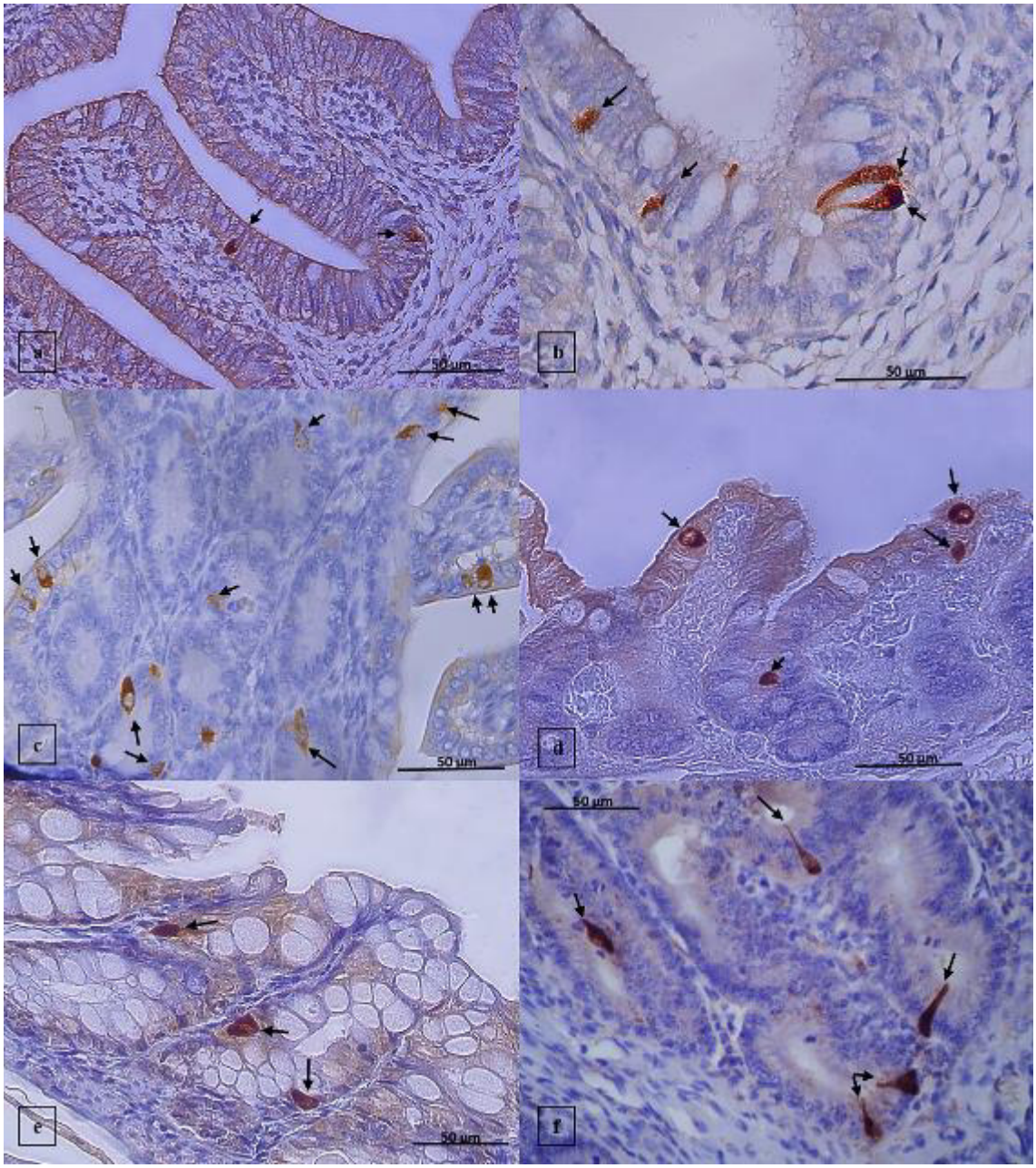


Figura 61: Identificación de células L en epitelio intestinal de alpacas. Las flechas muestran células con inmunomarcación de péptido tipo glucagón en células L positivas de a) colon ascendente, feto de 119 días, 40x; b) colon ascendente, feto de 207 días, 63x; c) íleon, feto de 317 días, 40x; d) colon descendente, feto de 325 días, 40x; e) colon transverso, cría de 18 días, 40x; f) yeyuno, cría de 21 días, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

Cuadro 46: Número de Células L productoras de GLP-1 por eje cripta vellosidad en epitelio intestinal de alpacas.

Etapa	Edad	Duodeno				Yeyuno				Íleon				Ciego				Colon Ascendente				Colon Transverso				Colon Descendente			
		Med	**Mo**	**M**	**Mx**	**Med**	**Mo**	**M**	**Mx**	**Med**	**Mo**	**M**	**Mx**	**Med**	**Mo**	**M**	**Mx**	**Med**	**Mo**	**M**	**Mx**	**Med**	**Mo**	**M**	**Mx**	**Med**	**Mo**	**M**	**Mx**
Fetal	F1T	0.0	0	0	0	1.0	1	0	3	0.0	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0	0	0	0	1.0	1	0	3
	F2T	0.5	0	0	3	0.0	0	0	2	1.0	1	0	3	1.0	1	0	4	1.0	1	0	4	0.0	1	0	4	1.0	1	0	3
	F3T	1.0	0	0	3	1.0	1	0	4	1.0	1	0	4	1.0	1	0	4	1.0	1	0	2	1.0	1	0	4	1.0	1	0	3
Postnatal, días	0-7	1.0	1	0	2	1.0	1	0	3	1.0	1	0	2	0.0	0	0	2	1.0	1	0	2	1.0	0	0	4	1.0	1	0	3
	8-15	1.0	1	0	2	1.0	1	0	3	1.0	1	1	4	0.0	0	0	2	1.0	1	0	1	1.0	1	0	3	1.0	1	0	3
	16-21	1.0	1	0	2	1.0	1	0	2	1.0	1	1	2	0.0	0	0	2	1.0	1	0	2	1.0	0	0	3	1.0	1	0	3
	22-27	1.0	1	0	2	1.0	1	1	3	2.0	2	1	3	1.0	1	0	2	1.0	1	0	1	0.0	0	0	1	1.0	1	0	2
	28-36	1.0	1	0	2	1.0	1	1	4	1.0	1	1	4	0.0	0	0	2	1.0	1	0	3	1.0	1	0	3	1.0	1	0	2
	37-45	1.0	1	0	2	1.0	1	1	3	2.0	2	1	5	0.0	0	0	2	1.0	1	0	2	1.0	1	0	3	1.0	1	0	3
	Adultos	1.0	1	0	3	1.0	1	1	2	1.0	1	1	2	1.0	1	0	1	1.0	1	0	2	1.0	0	0	3	2.0	2	1	2

Med: mediana; Mo: Moda; M: valor mínimo; Mx: valor máximo

5.3.4.2 Células K

Las células K son células productoras de péptido inhibidor gástrico (GIP), estas células fueron ubicadas en duodeno y yeyuno; en el caso del duodeno se pudieron identificar desde el día 164 de gestación y en yeyuno a partir del día 293 de gestación. El número de células tanto en duodeno y yeyuno es escaso, tanto la mediana y la moda es 0, con un rango de 0 a 1 por eje cripta vellosidad (Cuadro 47). Son células con forma de lágrima, poseen con un núcleo central basal redondeado, con gránulos citoplasmáticos abundantes positivos a la IHQ (Figura 62). Se ubican en la zona basal media de la evaginación en el segundo tercio de gestación y a partir del tercer tercio en la zona media de la vellosidad principalmente.



Figura 62: Identificación de células K en epitelio intestinal de alpacas. Las flechas muestran células con inmunomarcación de péptido inhibidor gástrico (GIP) en células K positivas de a) yeyuno, feto de 334 días, 40x; b) duodeno, cría de 18 días, 63x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

Cuadro 47: Número de Células K productoras de GIP por eje cripta vellosidad en epitelio intestinal de alpacas.

Etapa	Edad	Duodeno				Yeyuno			
		Mediana	Mo	M	Mx	Mediana	Mo	M	Mx
Fetal	F1T	0.0	0	0	0	0.0	0	0	0
	F2T	0.0	0	0	1	0.0	0	0	0
	F3T	0.0	0	0	1	0.0	0	0	1
Postnatal, días	0-7	0.0	0	0	1	0.0	0	0	1
	8-15	0.0	0	0	1	0.0	0	0	1
	16-21	0.0	0	0	1	0.0	0	0	1
	22-27	0.0	0	0	1	0.0	0	0	1
	28-36	0.0	0	0	1	0.0	0	0	1
	37-45	0.0	0	0	1	0.0	0	0	1
	Adultos	0.0	0	0	1	0.0	0	0	1

Mo: moda, M: valor mínimo, Mx: valor máximo

5.3.4.3 Células I

Las células I son células productoras de colecistoquinina (CCK). Se identificaron en duodeno y yeyuno. En el duodeno se observan desde los 216 días de gestación y en yeyuno desde los 325 días de gestación. Se ubican en la zona basal media de la vellosidad. La mediana y moda en casi todas las edades es 0, excepto en duodeno de adultos donde la mediana es 0.5. Por eje cripta vellosidad se observan entre 0 a 2 células (Cuadro 48; Figura 63).

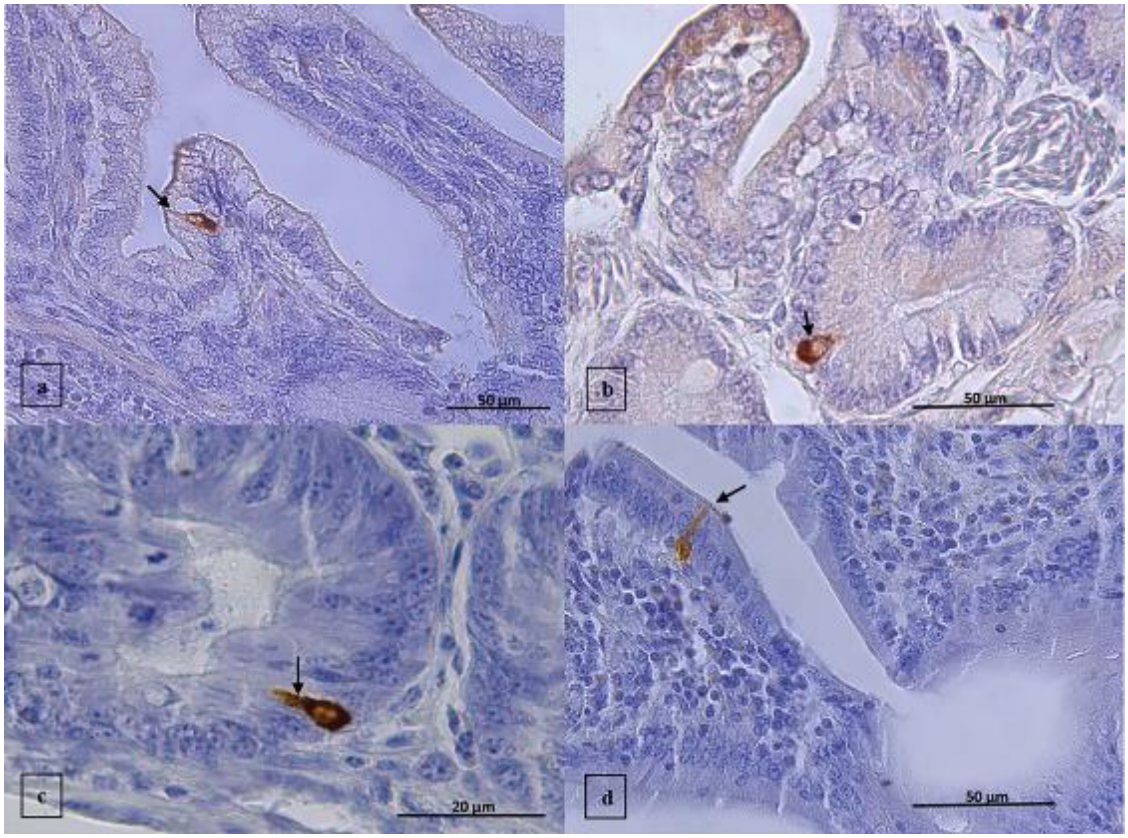


Figura 63: Identificación de células I en epitelio intestinal de alpacas. Las flechas muestran células con inmunomarcación de colecistoquinina (CCK) en células I positivas de a) yeyuno, feto de 325 días, 40x; b) yeyuno, feto de 334 días, 63x; c) yeyuno, cría de 21 días, 100x; d) duodeno, cría de 31 días, 63x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

Cuadro 48: Número de células I productoras de CCK por eje cripta vellosidad en epitelio intestinal de alpacas.

Etapa	Edad	Duodeno				Yeyuno			
		Mediana	Mo	M	Mx	Mediana	Mo	M	Mx
Fetal	F1T	0.0	0	0	0	0.0	0	0	0
	F2T	0.0	0	0	1	0.0	0	0	0
	F3T	0.0	0	0	1	0.0	0	0	1
Postnatal, días	0-7	0.0	0	0	2	0.0	0	0	2
	8-15	0.0	0	0	1	0.0	0	0	2
	16-21	0.0	0	0	2	0.0	0	0	2
	22-27	0.0	0	0	1	0.0	0	0	1
	28-36	0.0	0	0	2	0.0	0	0	2
	37-45	0.0	0	0	2	0.0	0	0	2
	Adultos	0.5	0	0	2	0.0	0	0	1

Mo: moda; M: valor mínimo; Mx: valor máximo

5.3.4.4 Células N

Las células N se observaron en el epitelio intestinal desde el duodeno hasta colon transverso. En el intestino delgado se observaron desde el segundo tercio de gestación, ubicadas en la zona media de las evaginaciones, y a partir de la aparición de las vellosidades las células N se observaron en la zona basal media de las vellosidades. En el caso de ciego colon ascendente y colon transverso se ubican en la zona media de las criptas. Son células grandes con núcleo central y citoplasma con vacuolas conteniendo la hormona (Figura 64).

En duodeno se observaron desde el día 164, hasta la edad adulta, el número de células en cada edad está en un rango de 0 a 1 o de 0 a 2 células por eje cripta vellosidad, con una moda y una mediana de 0. En yeyuno e íleon la aparición de estas células ocurrió a los 141 días de gestación. En yeyuno la mediana y moda fue de 0 en todas las edades. Se observó en fetos de segundo y tercer tercio y en crías de 8 a 15 días el mayor rango celular, 0 a 3 por eje cripta vellosidad. En íleon la mediana y la moda fue de 1, siendo los fetos de tercer tercio quienes presentaron el mayor rango, 0 a 4 células por eje cripta vellosidad.

En intestino grueso se encontraron células N en fetos, desde los 119 días en colon ascendente y transverso y desde los 141 días en ciego. En el caso de ciego estas células se reconocieron hasta en crías de 7 días de edad, el mayor número se observó en fetos del segundo tercio, mientras que en colon ascendente se reconocieron hasta los 18 días de edad y en colon transverso hasta los 21 días (Cuadro 49).

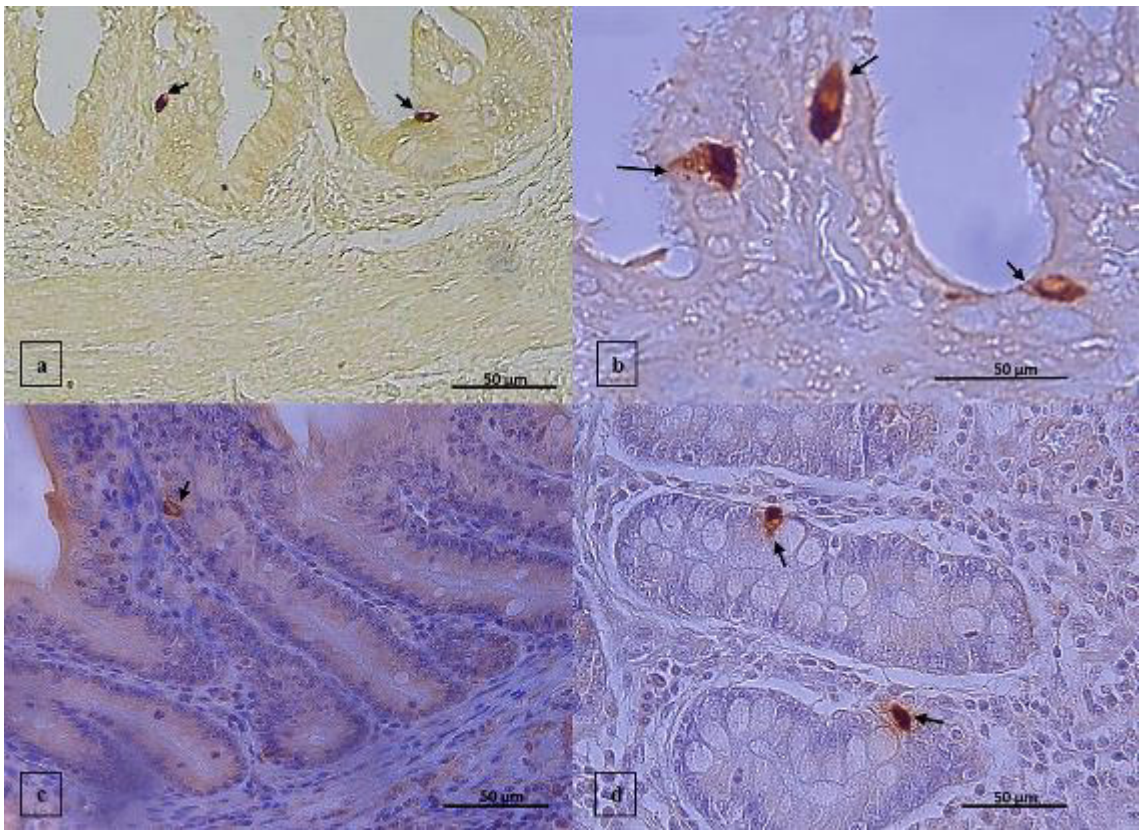


Figura 64: Identificación de células N en epitelio intestinal de alpacas. Las flechas muestran células con inmunomarcación neurotensina en células N positivas de a) ciego, feto de 164 días, 40x; b) íleon, feto de 296 días, 63x; c) íleon, cría de 21 días, 40x; d) ciego, adulto, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

Cuadro 49: Número de células N productoras de neurotensina por eje cripta vellosidad en epitelio intestinal de alpacas.

Etapa	Edad	Duodeno				Yeyuno				Íleon				Ciego				Colon Ascendente				Colon Transverso			
		Med	Mo	M	Mx	Med	Mo	M	Mx	Med	Mo	M	Mx	Med	Mo	M	Mx	Med	Mo	M	Mx	Med	Mo	M	Mx
Fetal	F1T	0.0	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0	0	0	0
	F2T	0.0	0	0	2	0.0	0	0	3	0.0	0	0	2	1.0	0	0	4	0.0	0	0	4	0.0	0	0	2
	F3T	0.0	0	0	1	0.0	0	0	3	1.0	1	0	4	0.0	0	0	2	0.0	0	0	1	0.0	0	0	2
Postnatal, días	0-7	0.0	0	0	2	0.0	0	0	2	0.0	0	0	2	0.0	0	0	2	0.0	0	0	2	0.0	0	0	2
	8-15	0.0	0	0	1	1.0	0	0	3	1.0	1	0	2	0.0	0	0	0	0.0	0	0	1	0.0	0	0	1
	16-21	0.0	0	0	1	0.0	0	0	2	1.0	1	0	3	0.0	0	0	0	0.0	0	0	3	0.0	0	0	0
	22-27	0.0	0	0	1	0.0	0	0	1	0.0	0	0	2	0.0	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0	0	0	0
	28-36	0.0	0	0	1	0.0	0	0	1	0.0	0	0	3	0.0	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0	0	0	0
	37-45	0.0	0	0	1	0.0	0	0	1	0.0	0	0	2	0.0	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0	0	0	0
	Adultos	0.0	0	0	1	0.0	0	0	1	1.0	0	0	2	0.0	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0	0	0	0

Med: Mediana; Mo: moda; M: valor mínimo; Mx: valor máximo

VI. CAPITULO III: EXPRESIÓN DE GLICOCONJUGADOS DEL EPITELIO INTESTINAL

6.1 OBJETIVO

Determinar la expresión de glicoconjugados en el epitelio intestinal de la alpaca durante su desarrollo.

6.2 METODOLOGÍA

Los carbohidratos son integrantes de todas las células y forman glicoconjugados con lípidos y proteínas presentes en la membrana celular y en el citoplasma. El estudio de los glicoconjugados en el epitelio intestinal se realizó mediante la identificación de carbohidratos presentes en ellos, mediante las técnicas histoquímicas de ácido peryódico-Schiff (PAS)-azul alcian (AA) y la de lectinhistoquímica (LHQ).

6.2.1 Técnica histoquímicas de ácido peryódico-Schiff (PAS)-azul alcian (AA)

La técnica histoquímica de PAS es una técnica sencilla, rápida y muy utilizada para la detección de carbohidratos en los tejidos. Su reacción está basada en la generación de grupos aldehídos libres a través de la oxidación de los grupos 1:2 glicol o de sus derivados aminados o alquilaminados, por medio del ácido tetrayódico IV (HIO_4). Los aldehídos libres reaccionan con el ácido sulfúrico (H_2SO_4)-fucsina del reactivo de Schiff, formando un compuesto que adquiere color magenta. Este método da resultado positivo ante la presencia de glucógeno, mucinas, sialomucinas y quitina. La coloración de AA, se basa en la generación de ligaduras electrostáticas entre el colorante cargado positivamente (catiónico) y polisacáridos ácidos de los tejidos que contienen repetidos grupos aniónicos como ácidos carboxilados o sulfatados, los cuales se tiñen de color azul turquesa. La técnica PAS-AA permitió, además, identificar células con contenido mixto (PAS-AA +), las cuales se colorearon de color púrpura (Cook, 1990).

Se prepararon láminas de 5µm de espesor, las cuales fueron coloreadas con PAS-AA (Cuadro 6). La lectura de láminas se realizó con el microscopio DM 4B usado en el capítulo I. En las láminas coloreadas se identificó el glicocalix y el citoplasma de las células epiteliales, donde se determinó marcación magenta (PAS+), turquesa (AA+) y púrpura (mixto positivo) y además se identificó el grado de marcación, 0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte.

6.2.2 Lectinhistoquímica (LHQ)

Las lectinas son un grupo heterogéneo de proteínas o glicoproteínas de origen no inmune, que tienen la propiedad de unirse con alta especificidad, y en forma reversible y no covalente a ciertos residuos de azúcares presentes en los glicoconjugados. El fundamento de esta técnica reside en su capacidad para poder localizar, identificar y diferenciar con gran sensibilidad y especificidad variaciones en la secuencia de carbohidratos de las células, permitiendo discriminar distintas poblaciones celulares; así mismo, permite establecer si la expresión de carbohidratos de una célula cambia durante distintos procesos fisiológicos o patológicos, lo cual hace que esta técnica sea apropiada para el estudio de la diferenciación celular que ocurre en el epitelio intestinal (Barbeito y Gimeno, 2004).

Mediante LHQ se identificó la expresión de glúcidos presente en el glicocalix y en el citoplasma de las células del epitelio intestinal (vellosidades y criptas) y glándulas de Brünner en las diferentes porciones intestinales. Para esto se utilizaron cortes de 4 µm de espesor de las diferentes porciones intestinales, las cuales fueron colocadas en láminas positivadas con Poly L-lisina (Sigma Aldrich, USA), y se trabajaron siguiendo el protocolo descrito en el cuadro 8. Se utilizaron 14 lectinas biotiniladas (Vector Laboratories, INC, Burlingame, CA, EE.UU) (Cuadro 7). Se utilizó el sistema estreptavidina peroxidasa (*Horseradish peroxidase Streptavidine-RTU,* Vector laboratories, INC, Burlingame, CA, EE.UU) como sistema de detección y amplificación de las uniones producidas por la afinidad entre la estreptavidina y la biotina. Se utilizó la 3,3 diaminobencidina (DAB) como cromógeno por su capacidad de reaccionar con el producto de esta reacción enzimática, lo cual se observó de color pardo dorado oscuro en los sitios de unión de las lectinas con los carbohidratos de los tejidos. Como coloración de contraste se utilizó hematoxilina de Harris para la marcación de los núcleos (Goldstein y Hayes, 1978; Goldstein *et al*., 1980; Cobo *et al*., 2004; Fernández *et al*., 2004; Barbeito *et al*., 2005).

La lectura de las láminas se realizó mediante el barrido de los tejidos, con el microscopio DM 4B (Leica, Alemania) utilizado en los estudios del capítulo I. Se determinó el grado de marcación en el glicocalix y citoplasma de células del epitelio de vellosidades, criptas y glándulas

de Brünner, en las diferentes porciones intestinales, en todas las edades. El grado de marcación utilizado fue de 0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada y 3: marcación fuerte. Los resultados obtenidos fueron colocados en tablas de resumen por porciones por edades.

6.3. RESULTADOS

6.3.1 PAS-AA

6.3.1.1 Intestino delgado

En duodeno, en el primer tercio de gestación, se observó marcación AA+ en glicocálix y citoplasma de las células epiteliales (Figura 65a). En la primera mitad del segundo tercio de gestación, no se observó tinción del epitelio (Figura 65b), mientras que en la segunda mitad se observa tinción AA fuerte en el glicocálix de las células epiteliales de la vellosidad y de la cripta, lo cual se mantiene hasta el tercer tercio, mientras que el citoplasma se observó tinción AA leve en vellosidades y sin tinción en criptas. En yeyuno, en el primer tercio y primera mitad del segundo tercio se observó tinción AA+ en el glicocálix en algunos animales y en otros la tinción fue mixta; mientras que en íleon solo se observó tinción AA+. En la segunda mitad del segundo tercio de gestación en yeyuno se observó tinción AA+ en glicocálix de las células de la vellosidad intestinal, y en íleon esta tinción fue en vellosidad y cripta (Figura 65c). En el tercer tercio de gestación el glicocálix de las vellosidades mantienen la tinción AA similar al segundo tercio de gestación y el citoplasma en vellosidades también adquiere tinción AA. En el caso de las criptas de yeyuno estas se tiñen de PAS+ (Figura 65d).

En la etapa postnatal, en duodeno, el glicocálix de las vellosidades varía por edades, desde una tinción solo AA+ en el recién nacido, pasando a una tinción PAS+ en las siguientes edades (Figura 65e) y mixta entre los 16 a 36 días de edad, mientras que en el adulto solo se observó AA+. En el caso del citoplasma se observó coloración en algunas edades. Las criptas presentaron tinción variada por edades similares a lo presentado las vellosidades. Las glándulas de Brünner presentaron tinción AA+ en glicocálix desde el tercer tercio de gestación hasta la edad adulta, y marcación PAS+ y otras AA+ en el citoplasma hasta los 21 días de edad, para luego ser solo AA+ (Figura 65g). En el caso del yeyuno e íleon, el glicocálix de las vellosidades presentaron tinción mixta en casi todas las edades (Figura 65h), mientras que en criptas la tinción fue principalmente AA+ con citoplasma PAS+ (Figura 65f, Cuadro 50). Entre el final del tercer tercio de gestación y los primeros días postnatal, se observó que los enterocitos fetales presentaron vacuolas PAS+.

6.3.1.2 Intestino grueso

En el primer y segundo tercio de gestación, se observó tinción AA+ en el glicocálix de las células epiteliales en todas las porciones (Figura 66a, b). En la segunda parte del segundo tercio de gestación, el glicocálix del epitelio superficial de todas las porciones es AA+ (Figura 66c), y este se mantiene en ciego o cambia a mixto en el resto de porciones. En el caso de las criptas, el glicocálix es AA+ con citoplasma mixto en colon ascendente y AA en colon descendente (Figura 66d). En la etapa postnatal, la tinción del glicocálix en todas las porciones se mantuvo como al final del tercer tercio de gestación. En el citoplasma de las células de las vellosidades de ciego se observó tinción PAS+ en el recién nacido y PAS+ y AA+ por zonas en otras edades (Figura 66 f) y se mantuvo constante como al final del tercer tercio en el resto de las porciones (Figura 66e, g, h; Cuadro 51).

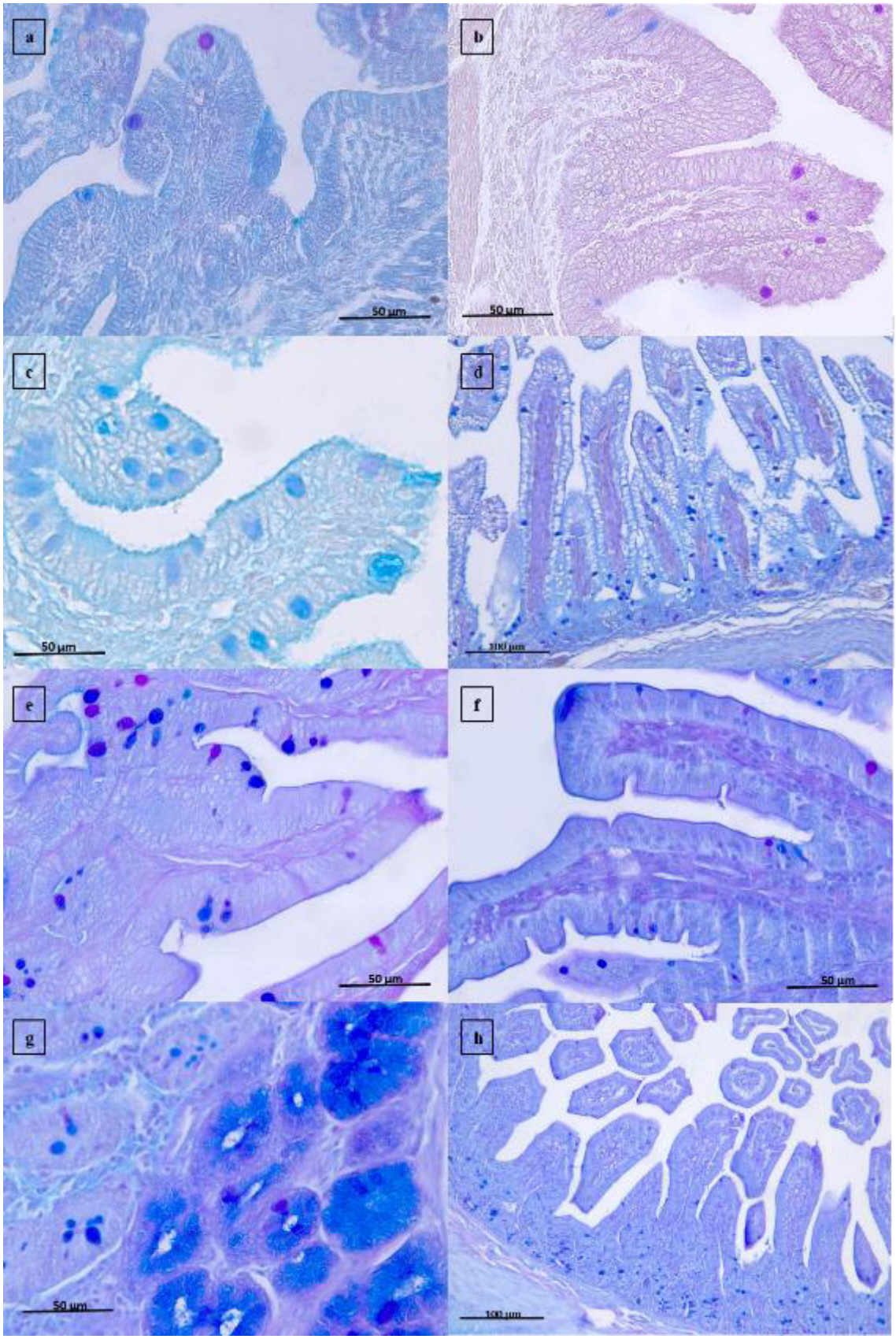


Figura 65: Tinción PAS-AA en intestino delgado de alpacas. Etapa Fetal: a) duodeno, 56 días, 40x; b) duodeno, 119 días, 40x; c) íleon, 216 días 63x; d) yeyuno, 317 días, 10x. Etapa postnatal: e) duodeno, 4 días, 40x; f) íleon, 5 días, 40x; g) duodeno, 27 días, 40x; h) yeyuno, 37 días, 10x.

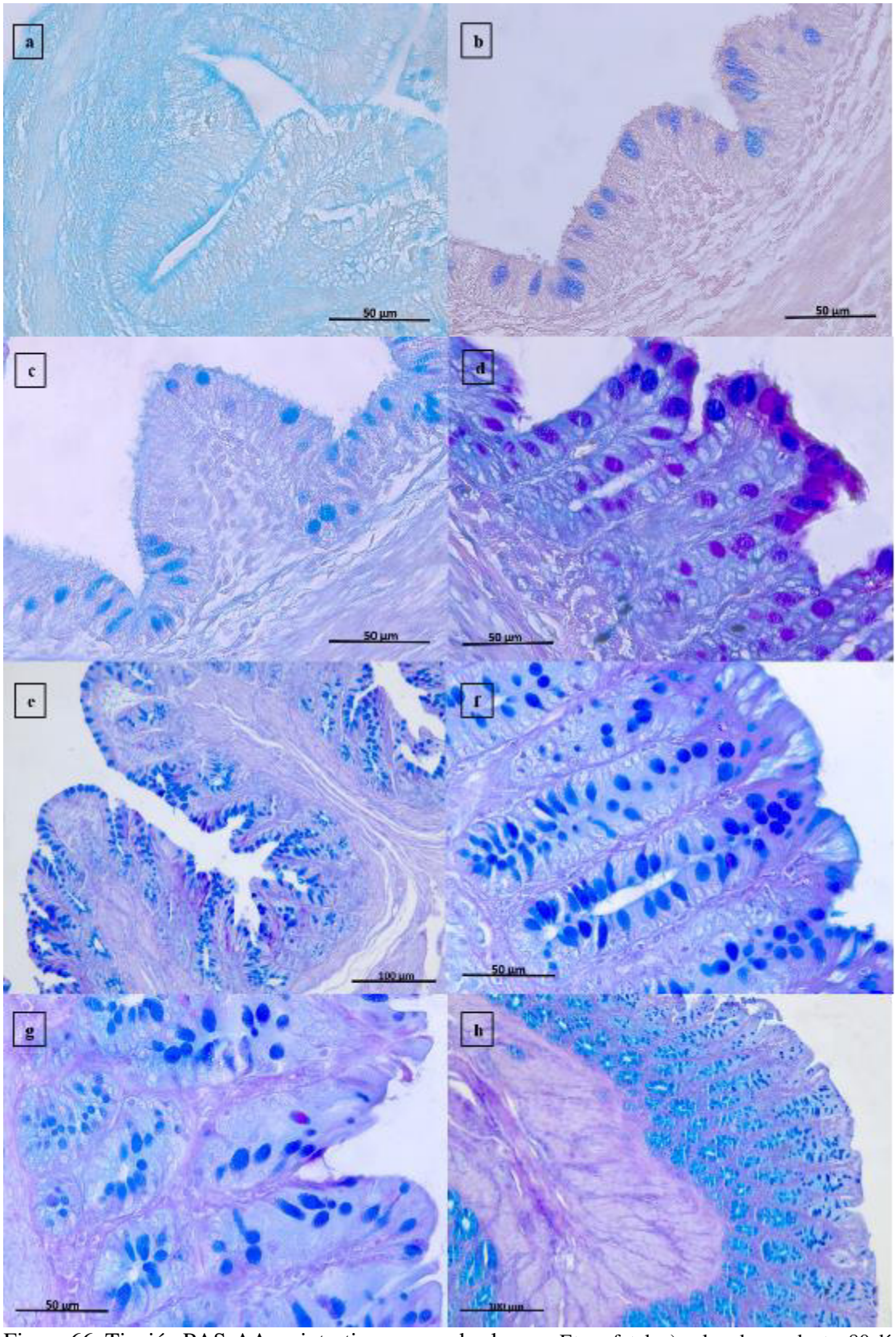


Figura 66: Tinción PAS-AA en intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) colon descendente, 80 días, 40x; b) ciego, 141 días, 40x; c) ciego, 216 días, 40x; d) colon descendente, 296 días, 40x. Etapa postnatal: e) colon descendente, 2 días, 10x; f) ciego, 7 días, 40x; g) colon transverso, 31 días, 40x; h) colon ascendente, 42 días, 10x.

Cuadro 50: Tinción PAS-AA en intestino delgado de alpacas.

Etapa	Edad	Duodeno						Yeyuno				Íleon			
		Evaginación						Evaginación				Evaginación			
				G	C			G	C			G	C		
Fetal	F1T			1T	1T			1T/1P	0/0/0			1-2T	0/0/0		
	F2Ta			0/0/0	0/0/0			1T/1P	0/0/0			1-2T	0/0/0		
		Vellosidad Intestinal		Cripta		GB		Vellosidad Intestinal		Cripta		Vellosidad Intestinal		Cripta	
		G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C
	F2Tb	3T	1T	3T	0/0/0	-	-	2T	0/0/0	0/0/0	0/0/0	3T	0/0/0	0-1T	0/0/0
	F3T	3T	1T	1-3T	0/0/0	2-3T	1M/2T	1-2T	1T	3P	1T	3T	0/0/0	2-3T	1T
Postnatal, días	RN	3T	0/0/0	3P	0/0/0	2T	0-2M/0-3T	2-3P	0/0/0	1T	0/0/0	3T	0/0/0	0/0/0	0/0/0
	1-7	3M	0-1M	0-1M	0/0/0	2-3T	0-2M/2T	3P	0/0/0	1-2T	0/0/0	3T	0/0/0	0-2M/0-3T	0-2M
	8-15	3M	0-2M	0-2M	0/0/0	3T	2M/2T	3P	0/0/0	1T	1M	3P	0/0/0	1T	0/0/0
	16-21	0-3M/0-3P	0/0/0	0-3M	0/0/0	3T	0-1M/1-2T	0-3M/0-3P	0/0/0	1-2M/0-3T	1M	3P	0/0/0	1T	0/0/0
	22-27	3P	0/0/0	2T	0/0/0	3T	3T	3P	0/0/0	3T	1-2M	3P	0/0/0	2-3T	0/0/0
	28-36	0-3M/3P	0/0/0	0-3M/0-3T	0/0/0	3T	2T	3P	0/0/0	2T	1M	3P	0/0/0	1-2T	1-2M
	37-45	0-3M/0-3T	0-1M	3T	0-2T	3T	3-2T	3P	0/0/0	1M	1-2M	3T	0/0/0	1-2T	1M
	Adultos	3T	0/0/0	2-3T	0/0/0	3T	1-3T	0-3T/0-3P	0/0/0	2-3T	0/0/0	3T	0/0/0	2-3T	0/0/0

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocálix, C: citoplasma, GB: glándulas de Brünner
T: turquesa, M: magenta, P: púrpura
0: ausencia de tinción, 1: tinción leve, 2: tinción moderada, 3: tinción fuerte

Cuadro 51: Tinción PAS-AA en intestino grueso de alpacas.

Etapa		Ciego				Colon Ascendente				Colon Transverso				Colon Descendente			
		Evaginación				Evaginación				Evaginación				Evaginación			
		G		C		G		C		G		C		G		C	
Fetal	F1T	0-1T		0/0/0		0-1T		0/0/0		0-2T		0/0/0		2-3T		0/0/0	
	F2Ta	0-2T		0/0/0		0-2T		0/0/0		0-2T		0/0/0		0-3T		0/0/0	
		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta	
		G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C
	F2Tb	1-2T	0/0/0	0/0/0	0/0/0	1-2T	0-1T	2-3T	0-1P	1-2T	0/0/0	0/0/0	0/0/0	1-2T	1T	0/0/0	0/0/0
	F3T	0-3T/3P	0/0/0	1-3T	0/0/0	3P	1P	2-3T	0-1P	3P	1-2M	2-3T	0/0/0	3P	2-3M	2-3T	1T
Postnatal, días	RN	2T	2-3M	1-2T	0/0/0	3P	2M	1-2T	0/0/0	3T	1M/1T	2-3T	0/0/0	3P	1-2M	1-2T	1T
	1-7	3T	1-2M/1T	2-3T	0/0/0	3T	2-3M	2-3T	0/0/0	3T	1-2M	2-3T	0/0/0	3P	1-3M	1-3T	1T
	8-15	3T	1M/1T	2-3T	0/0/0	0-3T/0-3P	1M/0-1T	3T	0/0/0	3P	0/0/0	2-3T	0/0/0	3P	1M	1-2T	1T
	16-21	3T	1M/1T	2-3T	0/0/0	3P	1M/0-1T	2-3T	0/0/0	0-3T	0-1M/0-1T	2-3T	0/0/0	3P	1M	1-3T	1T
	22-27	2-3T	1M/1T	2-3T	0/0/0	3T	1M	2-3T	0/0/0	3P	1M/1T	2-3T	0/0/0	3P	1M	1-3T	1T
	28-36	3T	1M/1T	2-3T	0/0/0	2T	1M/1T	2-3T	0/0/0	3P	1M/1T	2-3T	0/0/0	3P	0/0/0	1-2T	1T
	37-45	3T	1M/1T	2-3T/2P	0/0/0	0-2T/0-3P	1M/1T	2-3T	0/0/0	3P	1M/1T	2-3T	0/0/0	3P	1M/1T	1-3T	1T
	Adultos	3T	0/0/0	3T	0-1T	3T	0/0/0	3T	1T	3T	0/0/0	3T	0-1T	2-3T	0-1M	3T	1T

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocálix, C: citoplasma.
T: turquesa, M: magenta, P: púrpura
0: ausencia de tinción, 1: tinción leve, 2: tinción moderada, 3: tinción fuerte

6.3.2 Lectinhistoquímica

6.3.2.1 Lectina RCA-1: Esta lectina tiene afinidad tanto por el glicocálix como por el citoplasma del epitelio intestinal desde la etapa fetal hasta la edad adulta.

En el intestino delgado, durante el primer tercio de gestación y la primera mitad del segundo tercio de gestación, se observó marcación fuerte en glicocálix de las células epiteliales y marcación de leve a moderado citoplasma (Figura 67a). A partir de la segunda mitad del segundo tercio de gestación hasta la edad adulta el glicocálix de las vellosidades de duodeno y yeyuno presentaron marcación fuerte (Figura 67d, e), mientras que en íleon esta marcación fue fuerte hasta los 21 días, para luego ser moderada (Figura 67b, c). El citoplasma de las células de las vellosidades en todas las porciones presentó marcación moderada. En el caso de las criptas, el glicocálix en todas las porciones y el citoplasma en duodeno y yeyuno se marcaron de forma moderada; mientras que en el íleon el citoplasma presentó marcación leve. En el caso de animales adultos, no se marcó el citoplasma de las células de las vellosidades de duodeno e íleon y de las criptas de yeyuno e íleon (Figura 67f). El glicocálix y citoplasma de las células de las glándulas de Brünner presentaron marcación leve en el tercer tercio de gestación y en adultos, mientras que en las crías la marcación fue moderada (Cuadro 52).

En intestino grueso, en todas las porciones se observó marcación del glicocálix del epitelio de las evaginaciones en los primeros tercios de gestación (Figura 68a) y a partir de la segunda mitad del segundo tercio de gestación (Figura 68b) esta marcación se mantuvo en el glicocálix del epitelio superficial. En el caso del citoplasma de las células de la evaginación y del epitelio superficial, la marcación principalmente fue moderada en fetos (Figura 68c) y crías y en colon descendente de adultos, mientras que en ciego y colon transverso de adultos la marcación fue leve, y en el colon ascendente en la etapa fetal fue leve y en adultos no hubo marcación.

En el caso de las criptas, el glicocálix de las células presentó marcación moderada en todas las porciones desde la etapa fetal hasta las crías, y en adultas fue leve en ciego, y no se observó marcación en el resto de porciones (Figura 68d, e). En el citoplasma de las células de la cripta, en el ciego y colon ascendente en la etapa fetal se observó ausencia de marcación o marcación leve, cambió a marcación moderada después del nacimiento y en los adultos desapareció la marcación en ciego y fue moderada en colon ascendente. En colon transverso y descendente la marcación fue moderada desde la etapa fetal hasta los 45 días de edad postnatal, mientras que en adultos fue leve (Figura 68f, Cuadro 53).

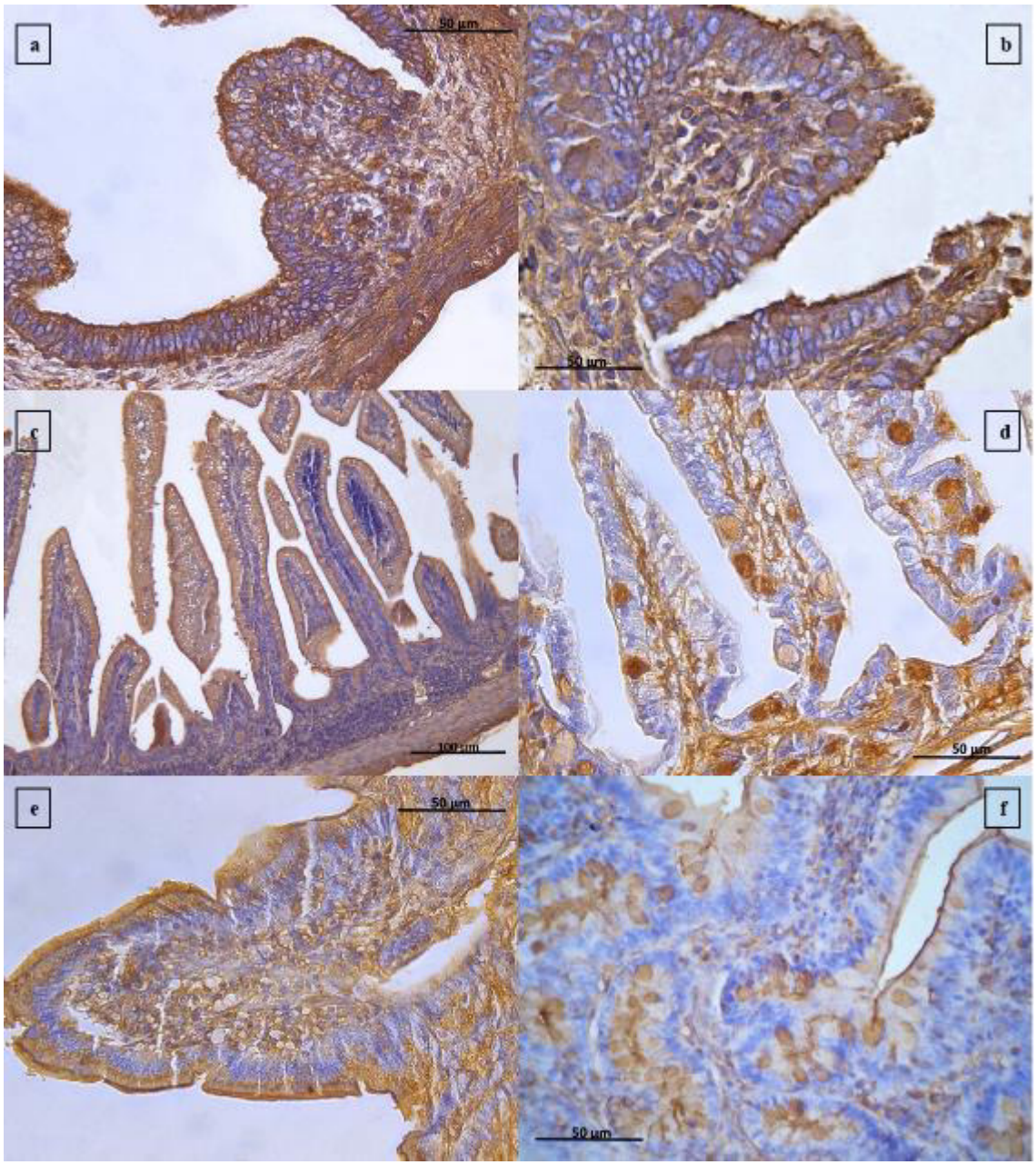


Figura 67: Marcación con lectina RCA-1 en intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: a) yeyuno, 56 días, 40x; b) íleon, 216 días, 40x; c) íleon, 334 días, 10x. Etapa postnatal: d) duodeno, 0 días, 40x; e) duodeno, 21 días, 40x; f) íleon, 45 días, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

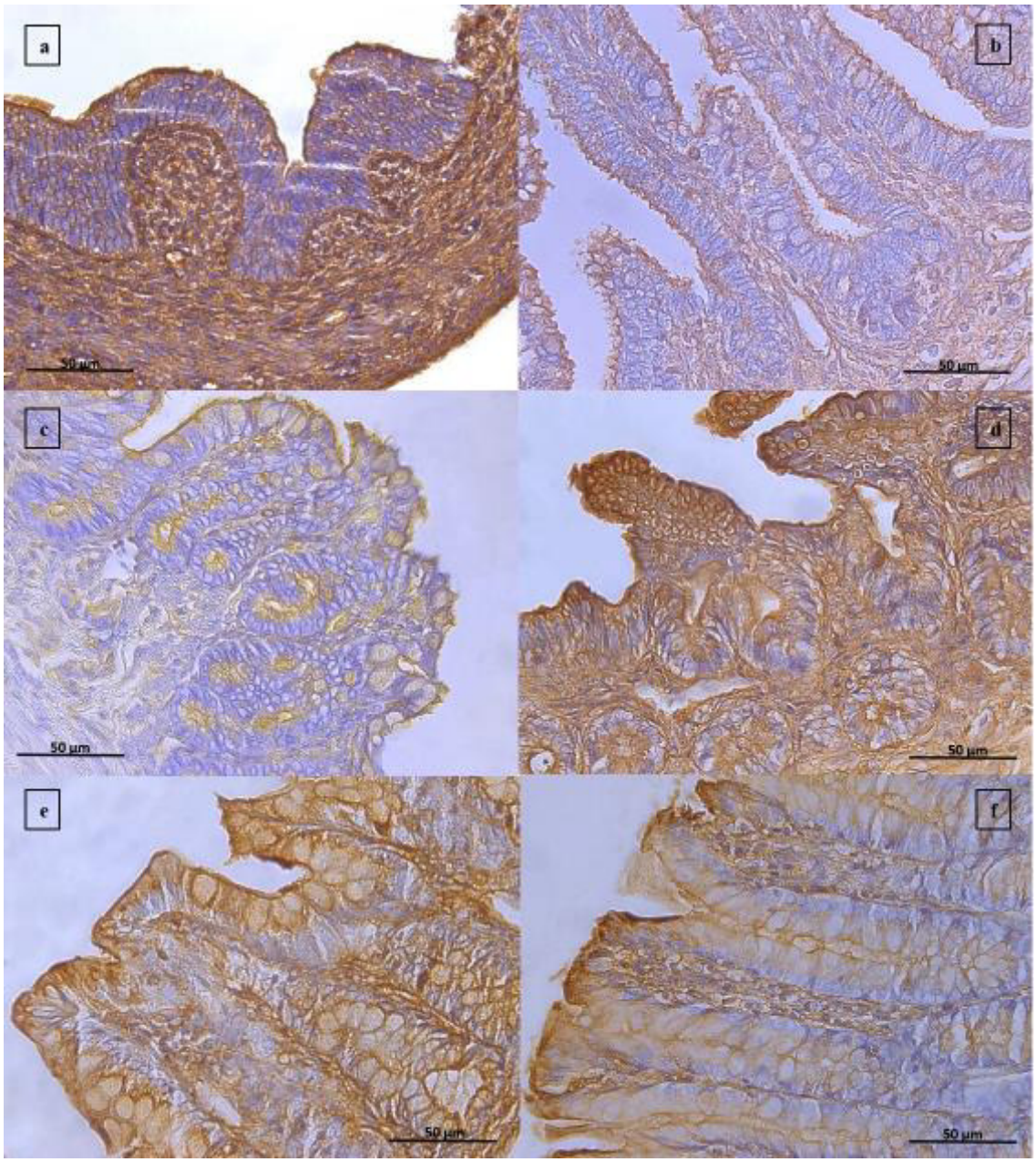


Figura 68: Marcación con lectina RCA-1 en intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) ciego, 80 días; b) colon descendente, 216 días; c) colon descendente, 296 días. Etapa postnatal: d) ciego, 0 días; e) colon ascendente, 7 días; f) colon transverso, 31 días. 40x. coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

Cuadro 52: Patrón de unión de la lectina RCA-1 al intestino delgado de alpacas.

Porción Intestinal		Duodeno						Yeyuno				Íleon			
Etapa	Edad	Evaginación						Evaginación				Evaginación			
		G		C				G		C		G		C	
Fetal	F1T	3		1				3		2		3		1	
	F2Ta	3		2				3		1-2		3		2	
		Vellosidad		Cripta		GB		Vellosidad		Cripta		Vellosidad		Cripta	
		G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C
	F2Tb	2	1	0	0	-	-	3	1-2	0	0	3	2	0	0
	F3T	3	1	1	1	1	0-1	3	1-2	2	1	3	1-2	2	1
Postnatal, días	RN	2	0	2	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	1
	1-7	3	2	2	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	1
	8-15	3	2	2	1-2	2	2	3	2	2	1-2	3	2	2	1
	16-21	3	1-2	2	2	2	2	3	2	2	1-2	2-3	2	2	1
	22-27	3	2	2	2	2	2	3	2	2	2	2	1	2	1
	28-36	3	2	2	2	2	2	3	2	2	1	2	2	2	2
	37-45	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	1
	Adultos	3	0	1	2*	1	1	2	1	1	0	2	0	1	0

*: Marcación granular cerca al núcleo
F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocálix, C: citoplasma, GB: glándulas de Brünner.
0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

Cuadro 53: Patrón de unión de la lectina RCA-1 al intestino grueso de alpacas.

Porción Intestinal		Ciego				Colon Ascendente				Colon Transverso				Colon Descendente			
Etapa	Edad	Evaginación				Evaginación				Evaginación				Evaginación			
		G		C		G		C		G		C		G		C	
Fetal	F1T	3		1-2		3		2		3		1		3		2	
	F2Ta	3		1-2		3		2		3		2		3		2	
		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta	
		G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C
	F2Tb	3	1	0	0	3	1	2	1	3	2	2	2	3	2	3	2
	F3T	3	2	2	1	3	1	2-3	1	3	1	2	1-2	3	2	3	2
Postnatal, días	RN	3	0	2	0	3	2	2	2	3	2	2	2	2	2	2	2
	1-7	3	2	2	2	3	2	3	2	3	2	2	2	3	2	2	2
	8-15	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2
	16-21	3	2	2-3	2	3	2	2-3	2	3	2	2	2	2-3	1-2	2-3	2
	22-27	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2
	28-36	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2
	37-45	3	2	2	1	3	2	2	2	3	2	2	2	2	2	2	2
	Adultos	3	1	1	0	2	0	0	1	2	1	0	1	3	2	0	1

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocálix, C: citoplasma.
0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

6.3.2.2 Lectina DBA: La lectina DBA tuvo una afinidad con el glicocálix y el citoplasma en todas las porciones intestinales, presentando marcaciones de leve a fuerte. En el intestino delgado la marcación del glicocálix de las células epiteliales de las evaginaciones y de las vellosidades fue entre moderado a fuerte en la etapa fetal y fuerte en la etapa posta natal; mientras que el citoplasma fue entre leve a moderado pero no presentó marcación en adultos. En las criptas, la marcación del glicocálix fue moderada y en el citoplasma fue moderada en duodeno de fetos y crías y leve en adultos; mientras que en yeyuno fue moderada en fetos y leve en crías y adultos, y en el íleon fue moderada en fetos y recién nacidos para luego ser leve en crías hasta los 36 días, luego volvió a ser moderada, pero en el adulto adoptó un patrón granular. Las glándulas de Brünner presentaron marcación moderada tanto en el glicocálix como en el citoplasma de fetos y crías, mientras que en adultos la marcación fue leve (Figura 69d; Cuadro 54).

En el intestino grueso, se observó marcación del glicocálix de las células epiteliales de la evaginación y del epitelio superficial desde el primer tercio de gestación; siendo, en todas las porciones intestinales, entre leve a fuerte en el primer tercio y fuerte a partir del segundo de tercio de gestación. El citoplasma de estas células presentó marcación entre leve y fuerte en el primer tercio de gestación y moderado a partir del segundo tercio de gestación hasta los 45 días de edad. En los animales adultos, se observó marcación leve en el ciego, moderada en colon transverso, fuerte en forma granular en colon ascendente y no se observó marcación en colon descendente. En las criptas se observó marcación moderada en el glicocálix desde la etapa fetal hasta los adultos en el ciego y desde la etapa fetal hasta los 45 días en el resto de las porciones; mientras que en los adultos no se observó marcación. En el citoplasma de estas células la marcación fue moderada en todas las edades en colon, mientras que en ciego varió según las edades entre leve a moderado, y en los adultos solo se observó marcación en algunas células de la zona media-superficial de la cripta (Figura 70, Cuadro 55).

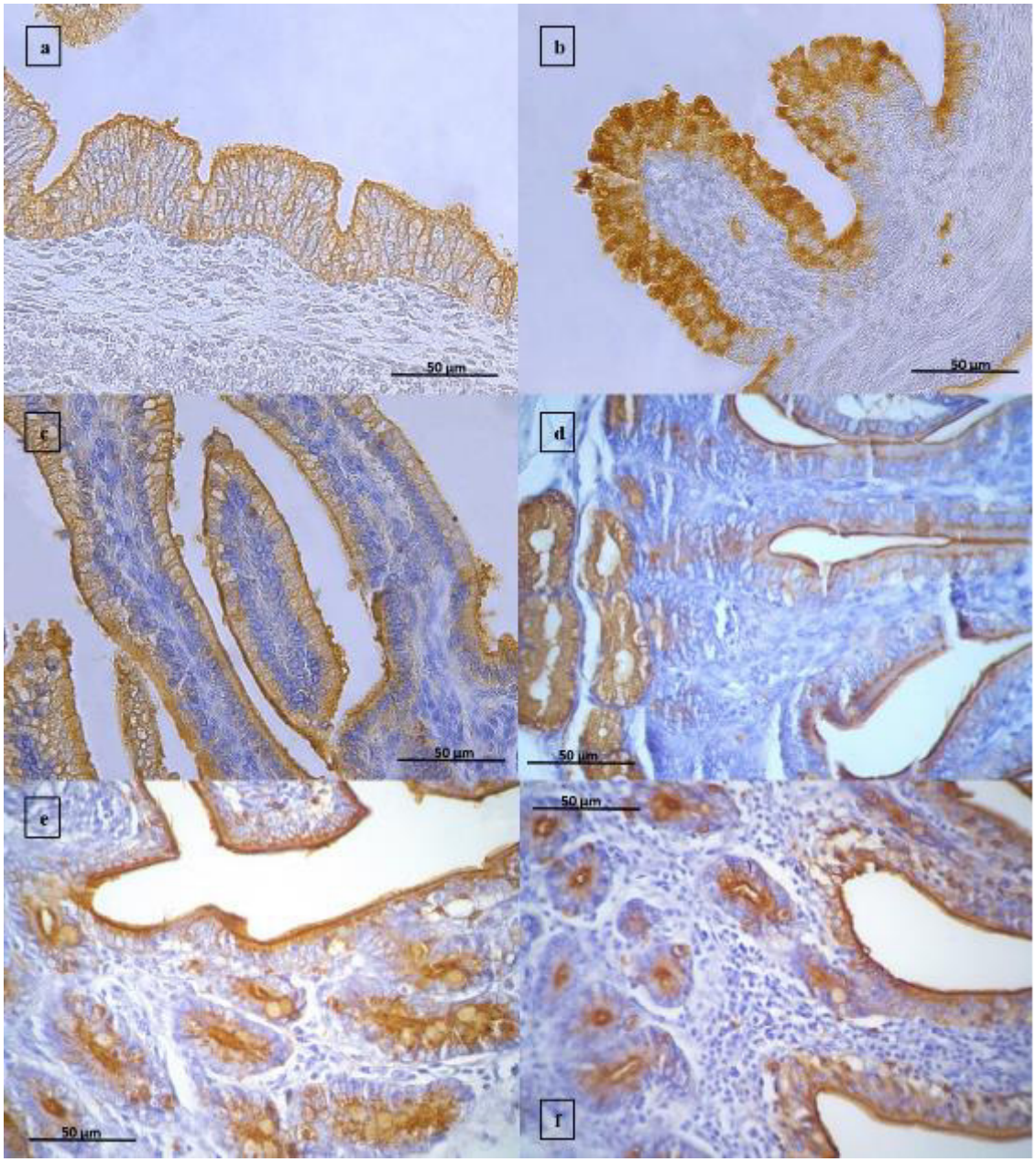


Figura 69: Marcación con lectina DBA en intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: a) Duodeno, 56 días; b) íleon, 119 días; c) íleon 334 días. Etapa postnatal: d) duodeno, 7 días; e) yeyuno 11 días; f) íleon, 41 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

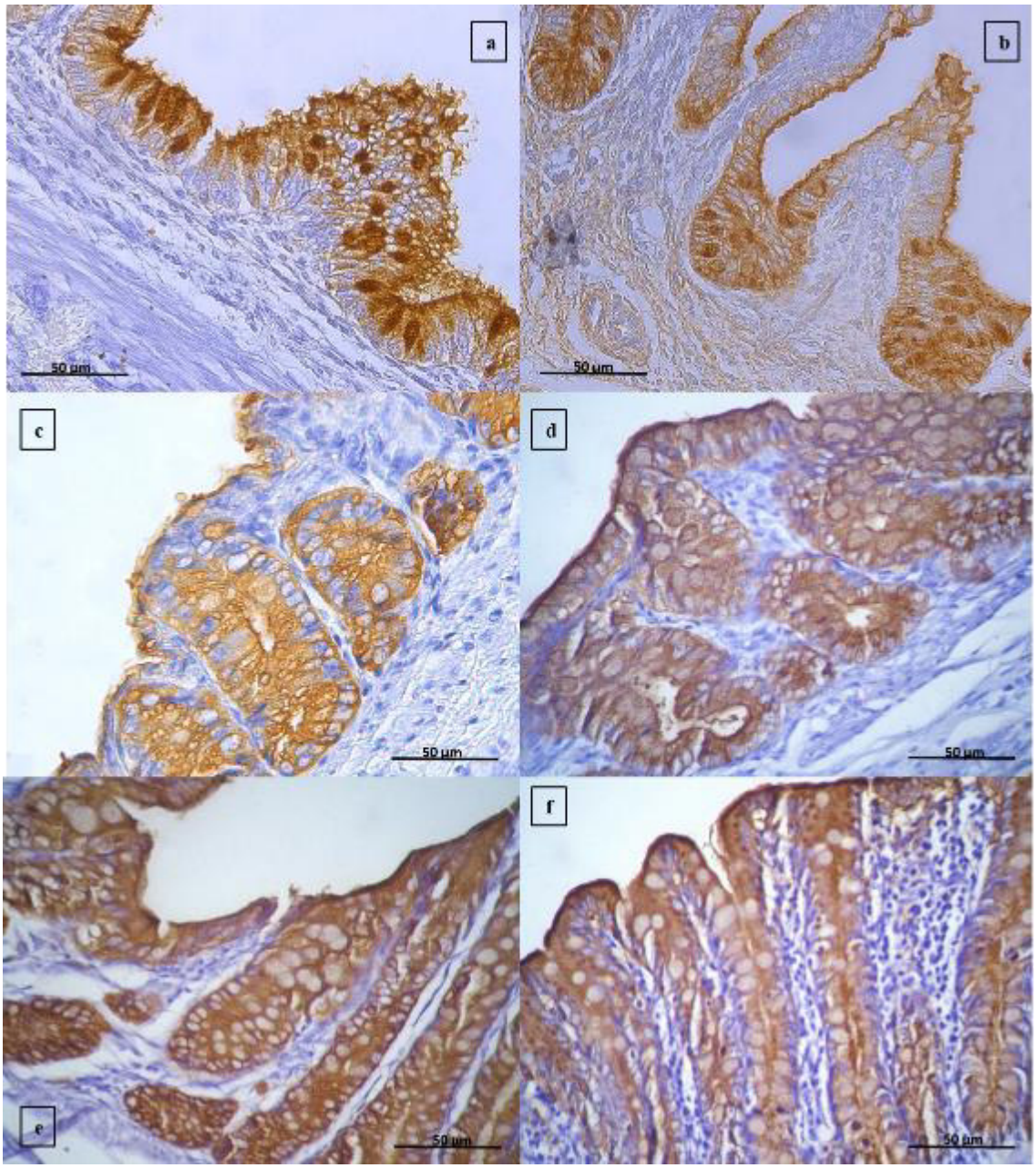


Figura 70: Marcación con lectina DBA en el intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) ciego, 141 días, 40x; b) colon ascendente, 216 días, 40x; c) colon descendente, 334 días, 63x. Etapa postnatal: d) colon ascendente, 2 días, 40x; e) colon transverso, 10 días, 40x; f) colon ascendente, 37 días, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

Cuadro 54: Patrón de unión de la lectina DBA al intestino delgado alpacas.

Porción Intestinal		Duodeno						Yeyuno				Íleon			
Etapa	Edad	Evaginación						Evaginación				Evaginación			
		G		C				G		C		G		C	
Fetal	F1T	3		1				2-3		1		2		1	
	F2Ta	2		2				3		1-2		2-3		1	
		Vellosidad		Cripta		GB		Vellosidad		Cripta		Vellosidad		Cripta	
		G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C
	F2Tb	3	1	2	2	-	-	3	2	2	2	2	1	2	2
	F3T	3	2	2	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2
Postnatal, días	RN	3	0	2	0	2	2	3	0	2	1	3	2	2	2
	1-7 días	3	2	2	0-2	2	2	3	0	2	1	3	1	2	1
	8-15 días	3	1-2	2	2	2	2	3	1-2	2	1	3	1	2	1
	16-21 días	3	1-2	2	2	2	2	3	2	2	1	3	1-2	2	1-2
	22-27 días	3	1	2	2	2	2	3	1	2	1	3	1	2	1
	28-36 días	3	1	2	2	2	2	3	1	2	1	3	2	2	1
	37-45 días	3	1	2	1	2	2	3	2	2	1	3	2	2	2
	Adultos	3	1	2	1*	1	1	3	1*	2	1*	3	0	1-2	2*

*: Marcación granular

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocalix, C: citoplasma, GB: glándulas de Brünner.
0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

Cuadro 55: Patrón de unión de la lectina DBA al intestino grueso alpacas.

Porción Intestinal		Ciego				Colon Ascendente				Colon Transverso				Colon Descendente			
Etapa	**Edad**	**Evaginación**				**Evaginación**				**Evaginación**				**Evaginación**			
		G		**C**		**G**		**C**		**G**		**C**		**G**		**C**	
Fetal	F1T	3		1		1		0		3		2		0-3		0-3	
	F2Ta	3		2		3		2		3		2		3		2	
		Epitelio Superficial		**Cripta**		**Epitelio Superficial**		**Cripta**		**Epitelio Superficial**		**Cripta**		**Epitelio Superficial**		**Cripta**	
		G	**C**	**G**	**C**	**G**	**C**	**G**	**C**	**G**	**C**	**G**	**C**	**G**	**C**	**G**	**C**
	F2Tb	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2
	F3T	3	2	2	2	3	2	2	2	3	1-2	2	2	3	2	2-3	2
Postnatal, días	RN	3	2	2	1	3	1	2	1	3	2	2	2	3	1	2	2
	1-7	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2
	8-15	3	2	2	1-2	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2
	16-21	3	2	2	1-2	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2
	22-27	3	2	2	1	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2
	28-36	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2
	37-45	3	2	2	1	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2
	Adultos	3	1	2	1[1]	3	3*	0	2	2	2	0	2	3	0	0	2

*: Marcación granular

1: la marcación se observa solo en algunas células de la cripta en la zona media-superficial

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocalix, C: citoplasma.

0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

6.3.2.3 Lectina GSL-1: Esta lectina presento un patrón variable de marcación, tanto en intestino delgado como en intestino grueso. En el intestino delgado, en todas las porciones intestinales, se observa marcación de leve a fuerte en el glicocálix y el citoplasma de las células del epitelio en el primer tercio y primera mitad del segundo tercio de gestación, principalmente hacia la base de las evaginaciones y las invaginaciones (Figura 71 a, b). En el duodeno, a partir de la segunda mitad del segundo tercio de gestación no se observó marcación en el glicocálix de las vellosidades hasta los 7 días post nacimiento. También se encontró positividad en crías de 22 a 27 días y adultos. En la etapa fetal no se observó marcación y a partir del día 1 post nacimiento se encontró marcación en algunas células de forma granular.

El glicocálix de las células de las criptas tuvo marcación variable, según la zona, entre leve a moderada, mientras que en el citoplasma no se observó marcación ni en crías ni en adultos (Figura 71d, e). En las glándulas de Brünner se observó marcación entre leve a moderado en el glicocálix desde el tercer tercio de gestación hasta adultos. En yeyuno e íleon el glicocálix de las vellosidades presentó marcación variable entre el tercer tercio de gestación y en los recién nacidos, luego el yeyuno presentó una marcación moderada, mientras que en el íleon no se observó marcación entre 1 a 21 días de edad. En el citoplasma de las células de las vellosidades de yeyuno se observó marcación leve en algunas edades, mientras que en el íleon la marcación a partir de los 22 días de edad fue moderada y con un patrón granular. La marcación del glicocálix de las criptas de yeyuno e íleon fue variable en ambas porciones y en el citoplasma no se observó marcación (Figura 71c, f; Cuadro 56).

En el caso de intestino grueso, también se observó marcación variable. En el ciego se marcó el glicocálix de las evaginaciones y del epitelio superficial desde la etapa fetal. Mientras que en colon la marcación solo se observó durante la etapa fetal. El citoplasma de las células de las evaginaciones y del epitelio superficial fue de leve a moderada y, generalmente granular; no se encontró reactividad en algunos momentos de la ontogenia como en los fetos de la segunda mitad del segundo tercio de gestación. En el caso del glicocálix de las criptas, solo se observó marcación leve en el ciego. El citoplasma de las células de las criptas del ciego y colon presentó marcación leve o moderada y de patrón granular (Figura 72, Cuadro 57).

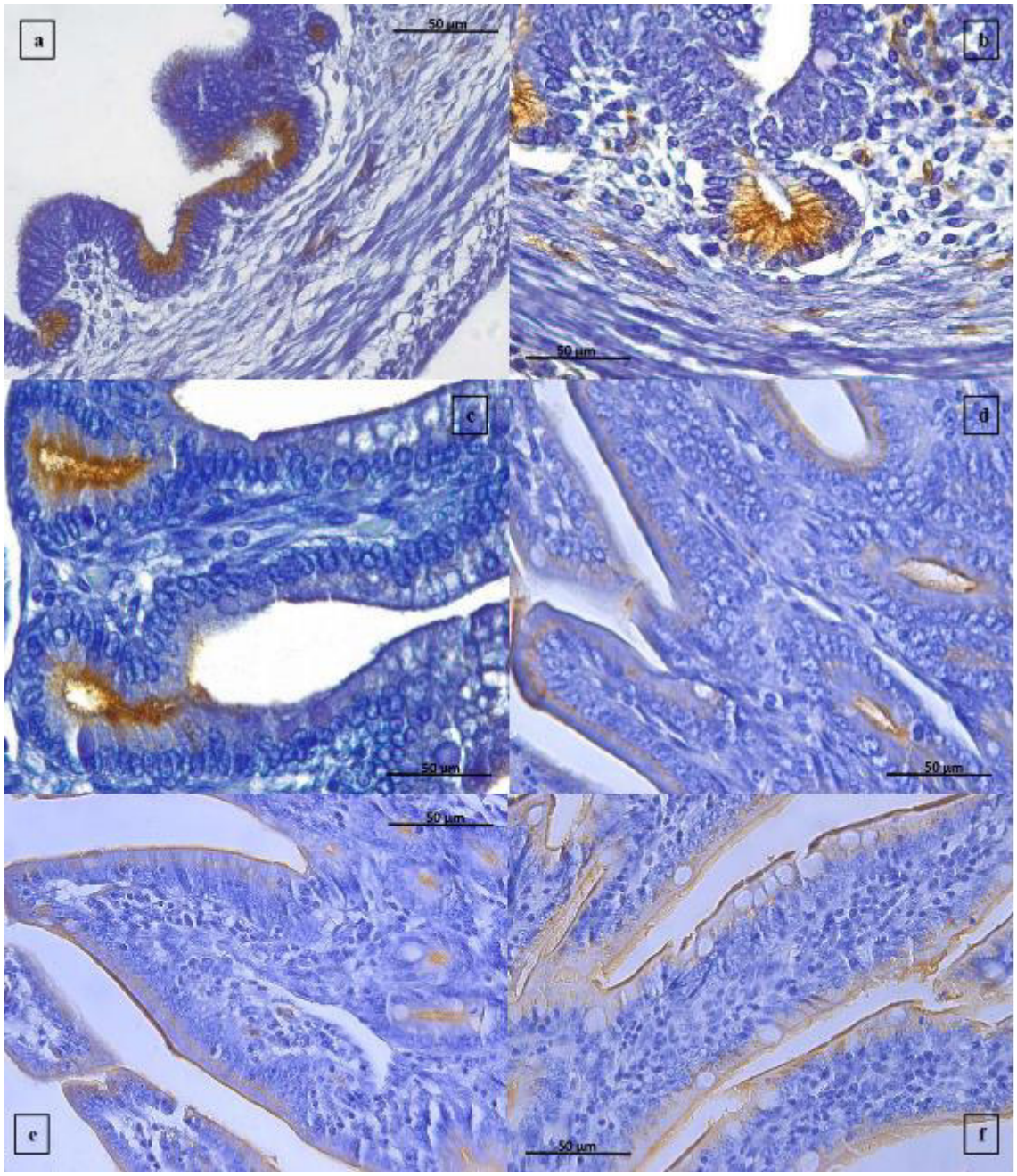


Figura 71: Marcación con lectina GSL-1 en el epitelio del intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: a) duodeno, 103 días, 40x; b) duodeno, 146 días, 63x; c) íleon, 334 días, 40x. Etapa postnatal: d) duodeno, 5 días, 40x; e) duodeno 11 días, 40x, f) íleon 45 días, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

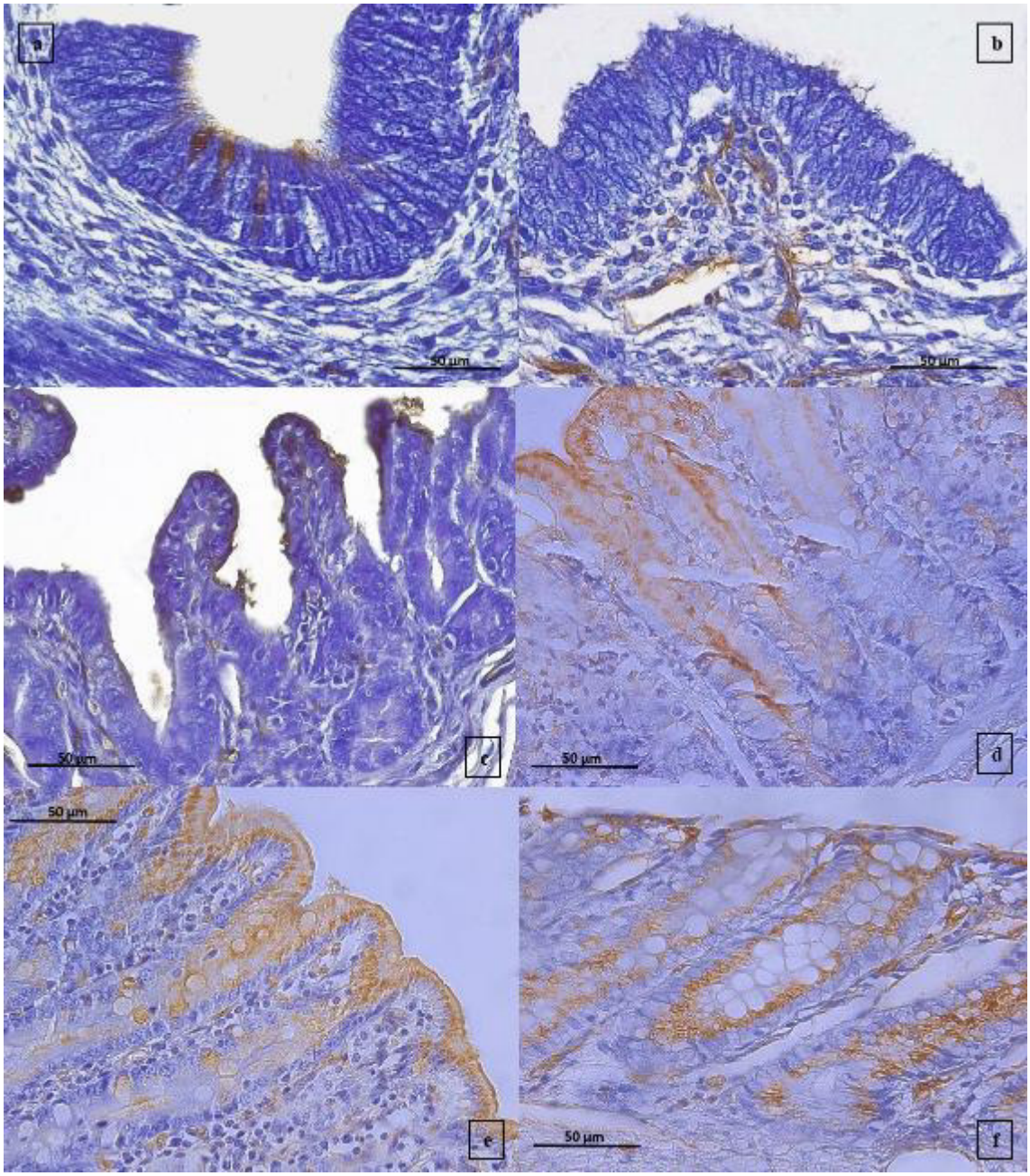


Figura 72: Marcación con lectina GSL-1 en el intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: colon ascendente, 103 días; b) ciego, 164 días; c) colon ascendente; 334 días. Etapa postnatal: d) colon ascendente, 31 días; e) ciego, 42 días; f) colon descendente, 43 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

Cuadro 56: Patrón de unión de la lectina GSL-1 al intestino delgado de alpacas

Porción Intestinal		Duodeno						Yeyuno				Íleon			
Etapa	Edad	Evaginación						Evaginación				Evaginación			
		G		C				G		C		G		C	
Fetal	F1T	0-3		0-3				0-3		0		0-2		0-1	
	F2Ta	0-3		0-3				0-3		0-3		2-3		0-3	
		Vellosidad		Cripta		GB		Vellosidad		Cripta		Vellosidad		Cripta	
		G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C
	F2Tb	0	0	0-2	0-2	-	-	0	0	0	0-1	0-1	0-1	0	0
	F3T	0	0	0-1	0-2	2	1-3	0-1	0-1	1-2	0	0-1	0	0	0
Postnatal, días	RN	0	0	1	0	2	2	0	0	0	0	2	0	2	0
	1-7	0	0-2*	0-2	0	2	2	0-2	0	0-1	0	0	0	0	0
	8-15	1	0-2*	1-2	1	2	2	2	0	2	0	0	0	1	0
	16-21	0-1	1*	1	0	1-2	1-2	2	0-1*	1	0	0	0	1	0
	22-27	0	0	0	0	1	1	2	1	1	0	2	2*	1	0
	28-36	1	0-1*	1	0	1	1	2	1	2	0	3	2*	1	0
	37-45	0-1	0-1*	0-1	0	1-2	1-2	2	0	1-2	0	2	0-2*	0-2	0
	Adultos	0	0	0-1	0	1	1	2	0-1	1	0	2	2	1	0

*: Marcación con patrón granular

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocálix, C: citoplasma, GB: glándulas de Brünner.

0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

Cuadro 57: Patrón de unión de la lectina GSL-1 al intestino grueso de alpacas.

Porción Intestinal		Ciego				Colon Ascendente				Colon Transverso				Colon Descendente			
Etapa	Edad	Evaginación				Evaginación				Evaginación				Evaginación			
		G		C		G		C		G		C		G		C	
Fetal	F1T	0-2		0-1		0-2		0		0		0		0		0	
	F2Ta	0-3		0-2		0-2		0-2		0-2		0-1		0-1		0-1	
		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta	
		G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C
	F2Tb	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0-1	0	0
	F3T	1	0-1	1	0	0-1	0-1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Postnatal, días	RN	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1-7	2	1*	2	1*	0	0	0	0	0	0-1*	0	0-1*	0	0-2*	0	0
	8-15	0	2*	1	1*	0	0-1*	0	0	0	0-1*	0	0	0	1-2*	0	0-2*
	16-21	0-2	2*	0-2	1	0	0	0-1	0	0	0-1*	0	0	0	0-2*	0	1-2*
	22-27	0	2*	1	1*	0	1*	0	1*	0	0-1	0	0	0	1*	0	1*
	28-36	0	1*	1	0	0	1-2*	0	0-1*	0	0-2*	0	0-2*	0	1*	0	1*
	37-45	2	1-2*	1-2	1*	0	1-2*	0	1*	0	1*	0	1*	0	1*	0	1*
	Adultos	0-2	2	1	1	0	1-2*	0	1*	0	1	0	1	0	1*	0	1*

*: Marcación con patrón granular

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocálix, C: citoplasma.

0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

6.3.2.4 Lectina SBA: En el intestino delgado se observó una marcación entre moderada y fuerte. El glicocálix de las células epiteliales de las evaginaciones y de las vellosidades desde la etapa fetal hasta la adultez en todas las porciones fue fuerte. En las células de las criptas la marcación varió entre moderada a fuerte en las diferentes edades. El citoplasma de las células epiteliales de las evaginaciones, las vellosidades y las criptas fue leve en la etapa fetal; en el íleon la marcación se observó a partir del segundo tercio de gestación, y fue moderada en las crías tanto en las vellosidades como en las criptas. En los adultos, se observó marcación leve en el citoplasma de las células de las vellosidades y las criptas de duodeno e íleon; en el yeyuno la marcación fue leve en las criptas y no se observó marcación en vellosidades. En el caso del duodeno, el citoplasma de las células de la cripta presentó gránulos con marcación fuerte. Las glándulas de Brünner presentaron marcación, por lo general moderada, en todas las edades (Figura 73, Cuadro 58).

En el intestino grueso se observó marcación desde el primer tercio de gestación en el ciego y el colon. El glicocálix del epitelio de las evaginaciones y el epitelio superficial presentaron marcación, generalmente fuerte en los fetos y las crías. En cambio, en los adultos no se observó marcación en el ciego, el colon transverso y descendente; por el contrario en el colon ascendente hubo afinidad que varió según la zona. El citoplasma de las células epiteliales del ciego y el colon presentó marcación entre leve a moderada en la etapa fetal y se mantuvo como moderada hasta la edad adulta, en este último estadio la marcación presentó un patrón granular. El glicocálix de las células de las criptas se marcó con una intensidad moderada desde la etapa fetal hasta los 45 días de edad, la marcación desapareció en los animales adultos. El citoplasma de las células de las criptas presentó marcación leve en la etapa fetal hasta el nacimiento y moderada en las crías. En los adultos la marcación fue moderada o fuerte con un patrón granular: En cambio en el en colon transverso solo se encontró marcación granular en algunas células (Figura 74, Cuadro 59).

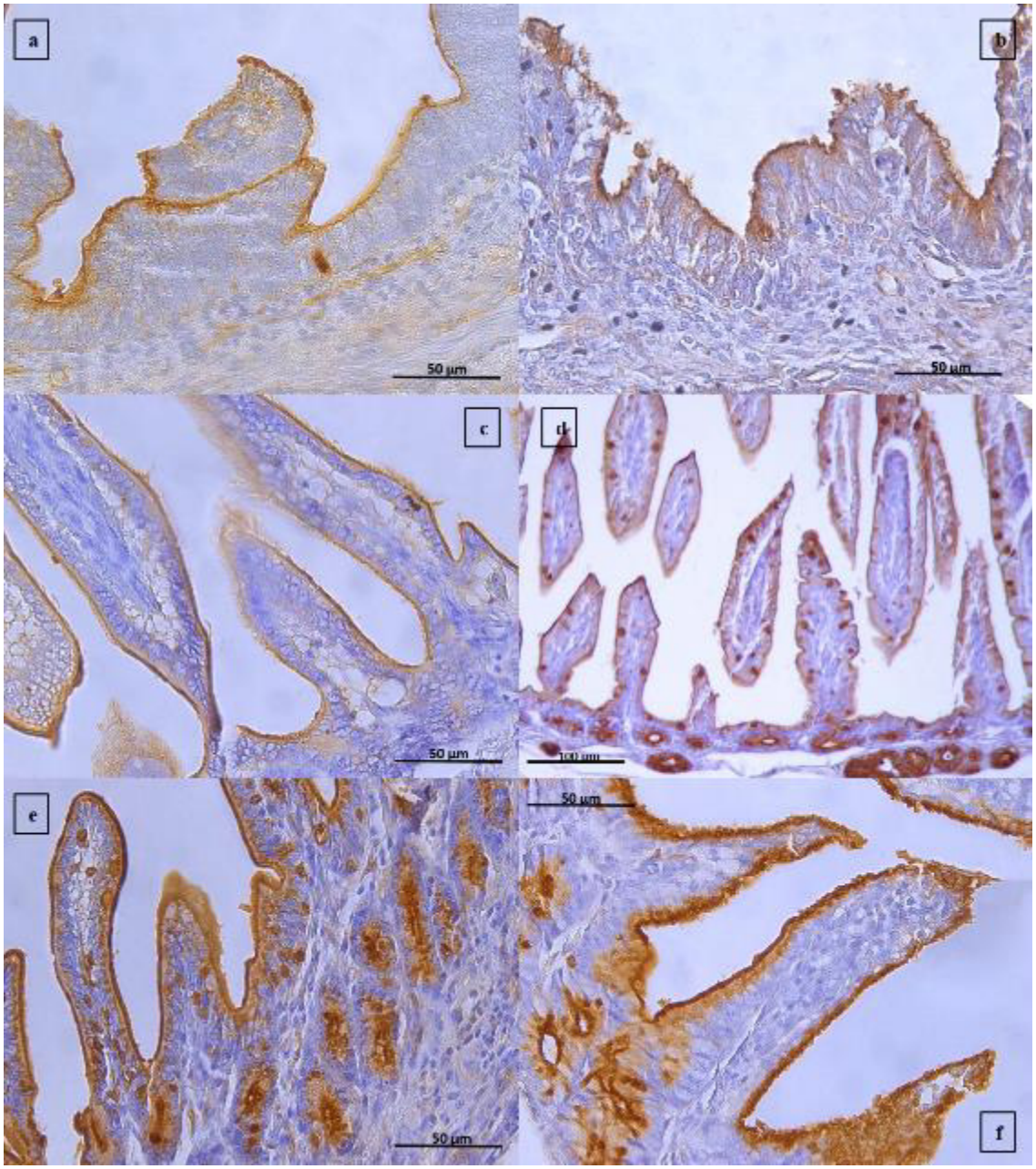


Figura 73: Marcación con lectina SBA en el intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: íleon, 80 días, 40x; b) yeyuno, 119 días, 40x; c) yeyuno, 296 días, 40x. Etapa postnatal: d) duodeno, 1 día, 10x; e) íleon, 7 días, 40x; f) íleon, 15 días, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

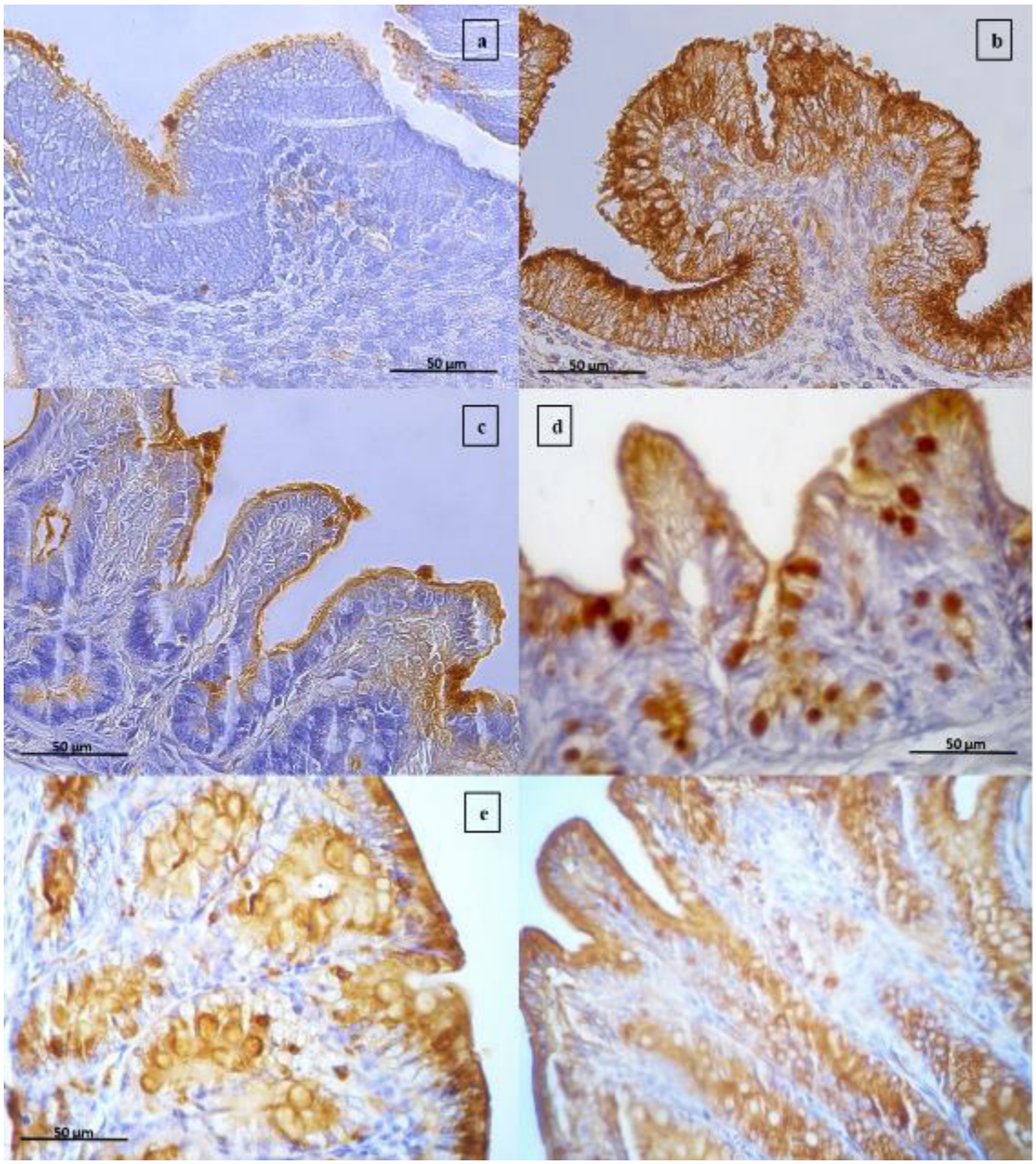


Figura 74: Marcación con lectina SBA en el intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) ciego, 80 días; b) colon transverso, 119 días; c) colon ascendente, 334 días. Etapa postnatal: d) ciego, 1 día; e) colon transverso, 18 días; f) colon ascendente, 42 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

Cuadro 58: Patrón de unión de la lectina SBA al intestino delgado de alpacas.

Porción Intestinal		Duodeno						Yeyuno				Íleon			
Etapa	Edad	Evaginación						Evaginación				Evaginación			
		G		C				G		C		G		C	
Fetal	F1T	3		1				2-3		1		3		0	
	F2Ta	3		1				3		1		3		1-2	
		Vellosidad		Cripta		GB		Vellosidad		Cripta		Vellosidad		Cripta	
		G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C
	F2Tb	3	2	2	2	-	-	2-3	1	2	1	2	1	2	1
	F3T	3	0-1	2	0-1	1-2	2	3	1	2	1	2	1	2	1
Postnatal, días	RN	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	2	2	2	2
	1-7	3	2	3	2	2	2	3	2	3	2	3	2	2	2
	8-15	3	2	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	3	2
	16-21	3	2	3	2	2-3	2	3	2	2	2	2-3	2	3	2
	22-27	3	2	2	2	2	2	3	2	3	2	2	2	2	2
	28-36	3	2	3	2	3	2	3	2	2	2	3	2	2	2
	37-45	3	2	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2
	Adultos	3	1-2	2-3	1*	2	2	3	0	2	1	3	1	2	1

*: Gránulos en el citoplasma con marcación 3

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocálix, C: citoplasma, GB: glándulas de Brünner.

0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

Cuadro 59: Patrón de unión de la lectina SBA al intestino grueso de alpacas.

Porción Intestinal		Ciego				Colon Ascendente				Colon Transverso				Colon Descendente			
Etapa	Edad	Evaginación				Evaginación				Evaginación				Evaginación			
		G		C		G		C		G		C		G		C	
Fetal	F1T	2		1		2		1		3		2		2		1	
	F2Ta	2-3		1-2		2-3		1-2		2-3		1-2		2-3		1-2	
		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta	
		G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C
	F2Tb	3	2	2	1	3	1	2	2	3	2	2	1	3	2	1	1
	F3T	3	2	2	1	3	2	2	1	3	1-2	2	1	2	1	1-2	1
Postnatal, días	RN	3	2	2	1	3	2	2	1	3	2	2	1	2	1	2	1
	1-7	3	2	3	2	3	2	2	1-2	3	2	2	2	3	2	2	2
	8-15	3	2	2-3	2	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	3	2
	16-21	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2
	22-27	3	2	2	2	3	2	3	2	3	2	2	2	3	2	3	2
	28-36	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2
	37-45	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2
	Adultos	0	2-3*	0	2-3*	0-2	2*	0	0	0	2*	0	2[1]	0	2-3*	0	2-3*

*: Marcación con patrón granular cerca del núcleo
1: marcación granular sólo en algunas células
F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocálix, C: citoplasma.
0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

6.3.2.5 Lectina SJA: La lectina SJA presentó afinidad variable según las diferentes edades y porciones intestinales. En el duodeno no se observó marcación en las vellosidades y criptas en ninguna edad. En las glándulas de Brünner se observó marcación entre leve a moderada en el glicocálix de las crías y no se evidenció marcación en adultos; mientras que el citoplasma presentó marcación leve en crías y adultos. En el yeyuno solo se observó marcación leve en el glicocálix de las células de las vellosidades en crías de 8 a 15 días, de 37 a 45 días y en animales adultos. En glicocalix de las células de las criptas la marcación fue leve en las crías de 8 a 21 días, y moderada en las de 37 a 45 días y en los animales adultos. En el íleon, se observó marcación moderada en el glicocalix del epitelio de las vellosidades desde los 16 días de edad. En las criptas de los recién nacidos la marcación fue leve, pero se hizo moderada (aunque limitada a algunas células) a partir del primer día de edad (Figura 75b, e, f; Cuadro 60).

En el intestino grueso, no se observó marcación en la etapa fetal. En la etapa postnatal no se observó marcación en el colon descendente y en las criptas de colon transverso; en cambio en el ciego se observó marcación en el glicocálix del epitelio superficial en crías de 1 a 7 días, y a partir de los 28 días de edad; también fue positivo el citoplasma del epitelio superficial de crías de 28 a 36 días de edad. En el glicocalix de las criptas se observó marcación leve en algunas criptas de crías de 8 a 15 días y marcación moderada en la misma localización a partir de los 28 días. En el citoplasma de las células de las criptas solo se observó reacción positiva en crías de 28 a 36 días.

En el colon ascendente se observó marcación entre moderada a fuerte en el glicocálix del epitelio superficial de crías de 1 a 7 días, así como en el glicocálix y citoplasma de algunas células de las crías de 8 a 15 días y de 28 a 45 días de edad, observándose en el citoplasma un patrón granular. En las criptas se observó marcación moderada en el glicocálix de algunas células de las crías de uno a 15 días de edad y de 28 a 45 días de edad, y marcación leve con patrón granular en el citoplasma de las células de la cripta de crías de 8 a 15 días de edad, esta marcación se observó principalmente en la zona superior de la cripta (Figura 75a, c, d).

En el colon transverso, la marcación fue leve en el glicocálix del epitelio superficial de las crías recién nacidas y, en algunas células, en las crías de uno a 7 días y de 28 a 36 días de edad. Por el contrario, no se observó marcación en el citoplasma de las mismas células (Cuadro 61).

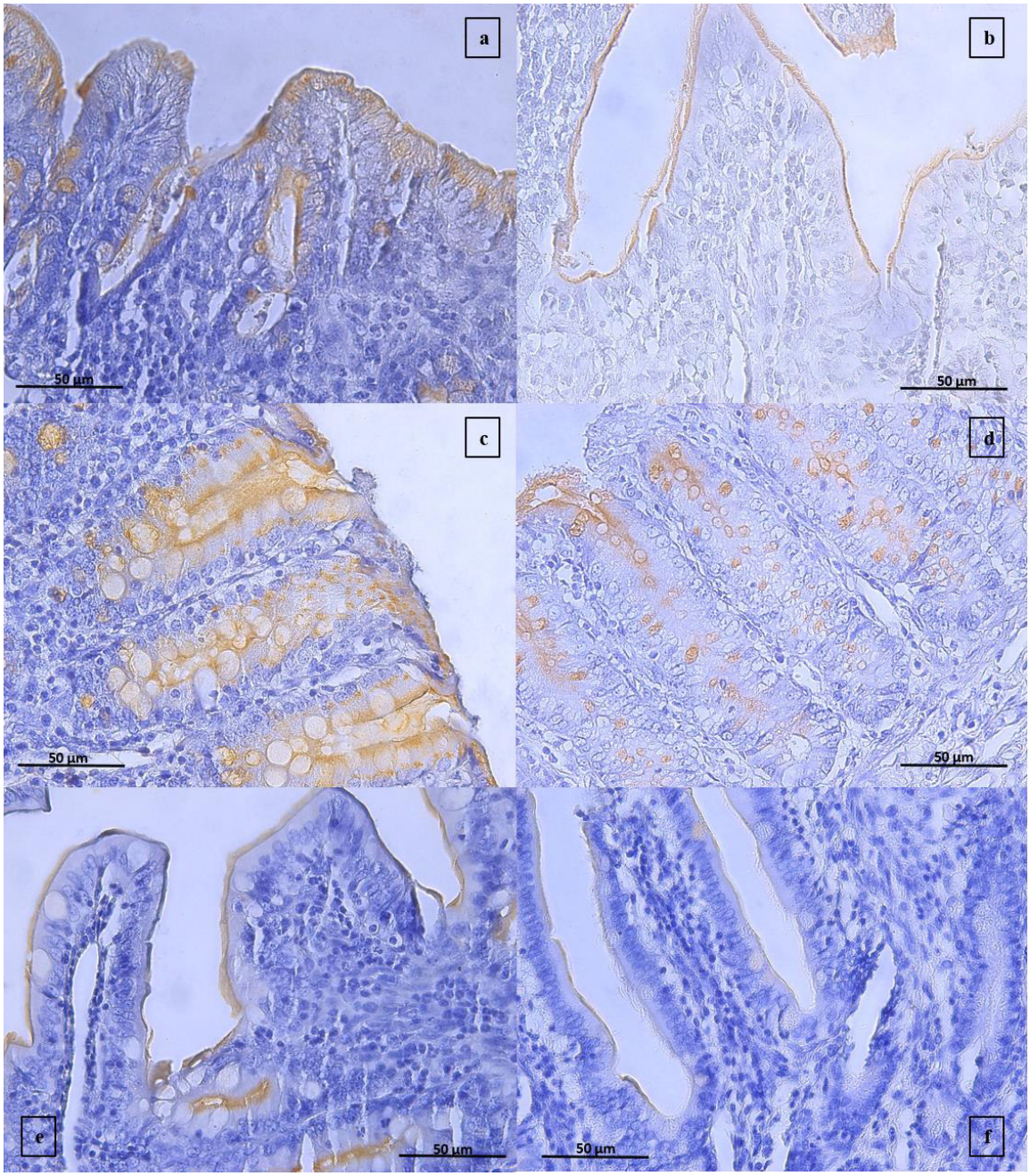


Figura 75: Marcación con lectina SJA en el intestino de alpacas. a) colon ascendente, 7 días, 40x; b) íleon 11 días; c) colon ascendente, 11 días; d) colon ascendente, 18 días; e) íleon, 36 días; f) íleon, 42 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

Cuadro 60: Patrón de unión de la lectina SJA al intestino delgado de alpacas.

Porción Intestinal		Duodeno						Yeyuno				Íleon			
Etapa	Edad	Evaginación						Evaginación				Evaginación			
		G		C				G		C		G		C	
Fetal	F1T	0		0				0		0		0		0	
	F2Ta	0		0				0		0		0		0	
		Vellosidad		Cripta		GB		Vellosidad		Cripta		Vellosidad		Cripta	
		G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C
	F2Tb	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	F3T	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Postnatal, días	RN	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0-1	0
	1-7	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0-2	0
	8-15	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0-2	0
	16-21	0	0	0	0	0-2	1	0	0	0-1	0	2	0	0-2	0
	22-27	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	2	0	0-2	0
	28-36	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	2	0	0-2	0
	37-45	0	0	0	0	1-2	1	1	0	2	0	2	0	0-2	0
	Adultos	0	0	0	0	0	1	1	0	2	0	2	0	0-2	0

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocálix, C: citoplasma, GB: glándulas de Brünner.
0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

Cuadro 61: Patrón de unión de la lectina SJA al intestino grueso de alpacas.

Porción Intestinal		Ciego				Colon Ascendente				Colon Transverso				Colon Descendente			
Etapa	**Edad**	**Evaginación**				**Evaginación**				**Evaginación**				**Evaginación**			
		G		**C**		**G**		**C**		**G**		**C**		**G**		**C**	
Fetal	F1T	0		0		0		0		0		0		0		0	
	F2Ta	0		0		0		0		0		0		0		0	
		Epitelio Superficial		**Cripta**		**Epitelio Superficial**		**Cripta**		**Epitelio Superficial**		**Cripta**		**Epitelio Superficial**		**Cripta**	
		G	**C**	**G**	**C**	**G**	**C**	**G**	**C**	**G**	**C**	**G**	**C**	**G**	**C**	**G**	**C**
	F2Tb	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	F3T	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Postnatal, días	RN	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	1-7 días	0-1	0	0	0	2-3	0-2*	1-2	0	0-1	0	0	0	0	0	0	0
	8-15	0	0	0-1	0	0-3	0-2*	0-2	0-1*	0	0	0	0	0	0	0	0
	16-21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	22-27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	28-36	1	1	2	1	0-2	0	0-2	0	0-1	0	0	0	0	0	0	0
	37-45	1-2	0	2	0	0-2	0	0-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Adultos	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*: Marcación con patrón granular
F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocálix, C: citoplasma.
0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

6.3.2.6 Lectina PNA: En el intestino delgado se observó marcación desde el primer tercio de gestación, en el glicocálix de las células epiteliales, la marcación fue fuerte en las tres porciones; y leves en el citoplasma (Figura 76a, b). A partir del segundo tercio de gestación, en las vellosidades del duodeno se observó marcación fuerte o moderada en el glicocálix. En cambio, la marcación fue negativa en los fetos del tercer tercio de gestación y las crías de 7 días (Figura 76c); en el citoplasma del epitelio de las vellosidades se observó marcación leve o moderada en los fetos del segundo tercio de gestación y en las crías a partir del día uno de edad, en algunas edades el patrón de marcación fue granular.

El glicocálix de las células de la cripta fue positivo frente a esta lectina desde la etapa fetal. En las glándulas de Brünner se observó marcación moderada en el glicocalix de los fetos de tercer tercio de gestación y en el citoplasma de las crías y adultos la marcación fue entre leve a fuerte (Figura 76f). En el yeyuno y el íleon la marcación fue moderada o fuerte en el glicocálix de las vellosidades de los fetos y en crías y adultos fue leve o moderado principalmente; el citoplasma de estas células presentó principalmente marcación moderada (Figura 76d, e). En las criptas de yeyuno se observó marcación moderada principalmente en glicocálix y leve en citoplasma en crías de 36 a 45 días y animales adultos, mientras que en íleon el glicocálix se observó marcación leve en glicocálix y no se observó marcación en citoplasma (Cuadro 62).

En el intestino grueso se observó marcación desde el primer tercio de gestación (Figura 77a). La marcación fue fuerte en glicocálix del epitelio superficial del ciego, y en algunas edades del colon transverso y el colon descendente, y leve en algunas células del colon ascendente (Figura 77b, c). En el citoplasma de las células superficiales se observó marcación moderada en ciego, colon transverso y colon descendente, en colon ascendente la marcación fue de patrón granular (Figura 77d). En las criptas, se detectó marcación en el glicocálix de las células de las regiones superficiales de las criptas, principalmente en crías de 8 a 15 días y de 37 a 45 días y animales adultos (Figura 77e).

El citoplasma de las células de las criptas de crías y adultos presentó marcación leve, principalmente, en las células de la zona superficial de las criptas de ciego y colon ascendente (Figura 77f). En el colon transverso no se observó marcación en el glicocalix de las criptas y en colon descendente solo se observó marcación en fetos desde el segundo tercio de gestación hasta 7 días post nacimiento. El citoplasma de las células de las criptas tuvo marcación irregular en colon transverso variando entre ausencia a moderado, mientras que en colon descendente la marcación fue moderada desde fetos hasta adultos (Cuadro 63).

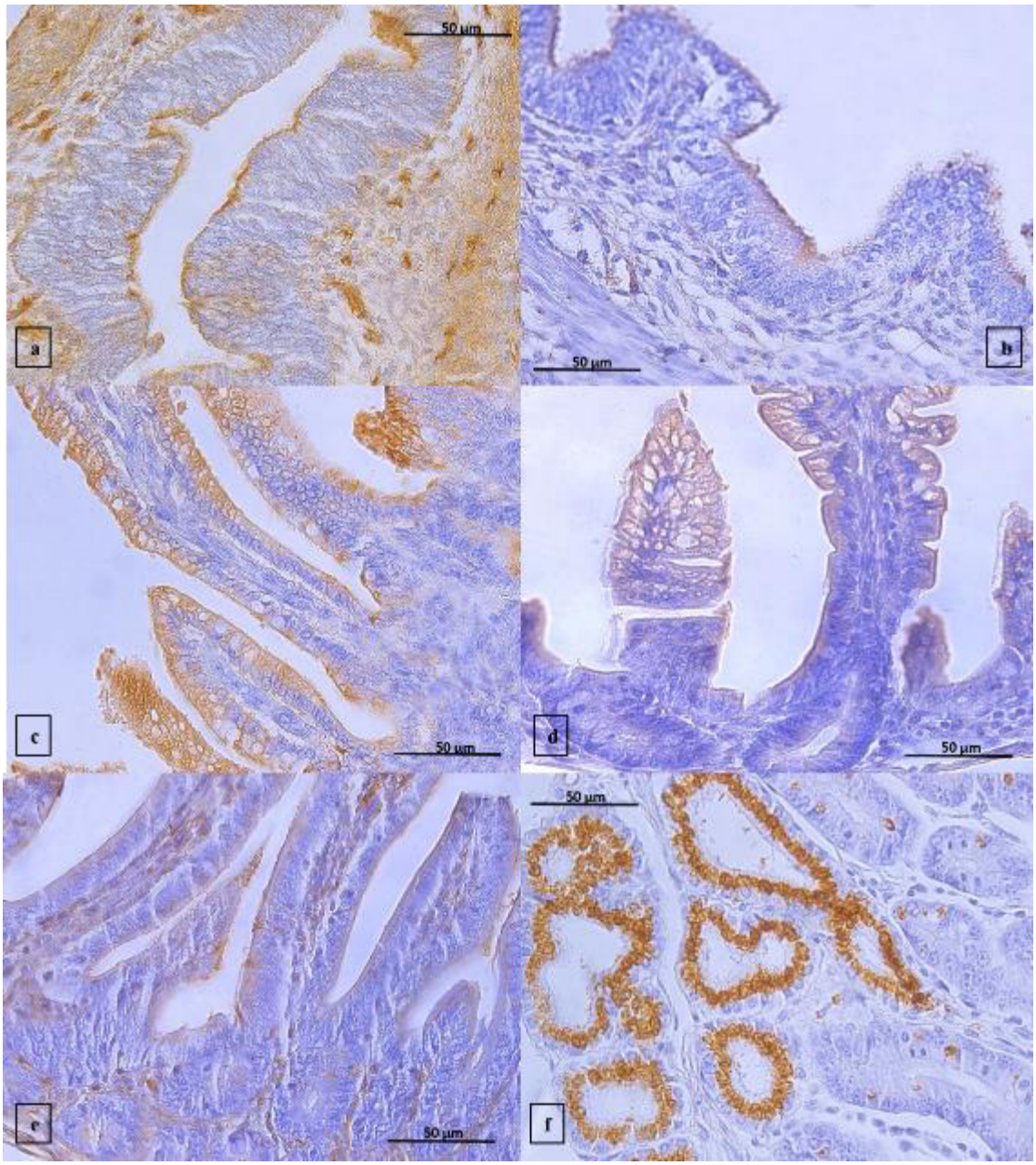


Figura 76: Marcación con lectina PNA en intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: a) yeyuno, 46 días; b) íleon, 141 días; c) íleon 334 días. Etapa postnatal: d) yeyuno, 3 días; e) íleon, 7 días; f) duodeno, 41 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

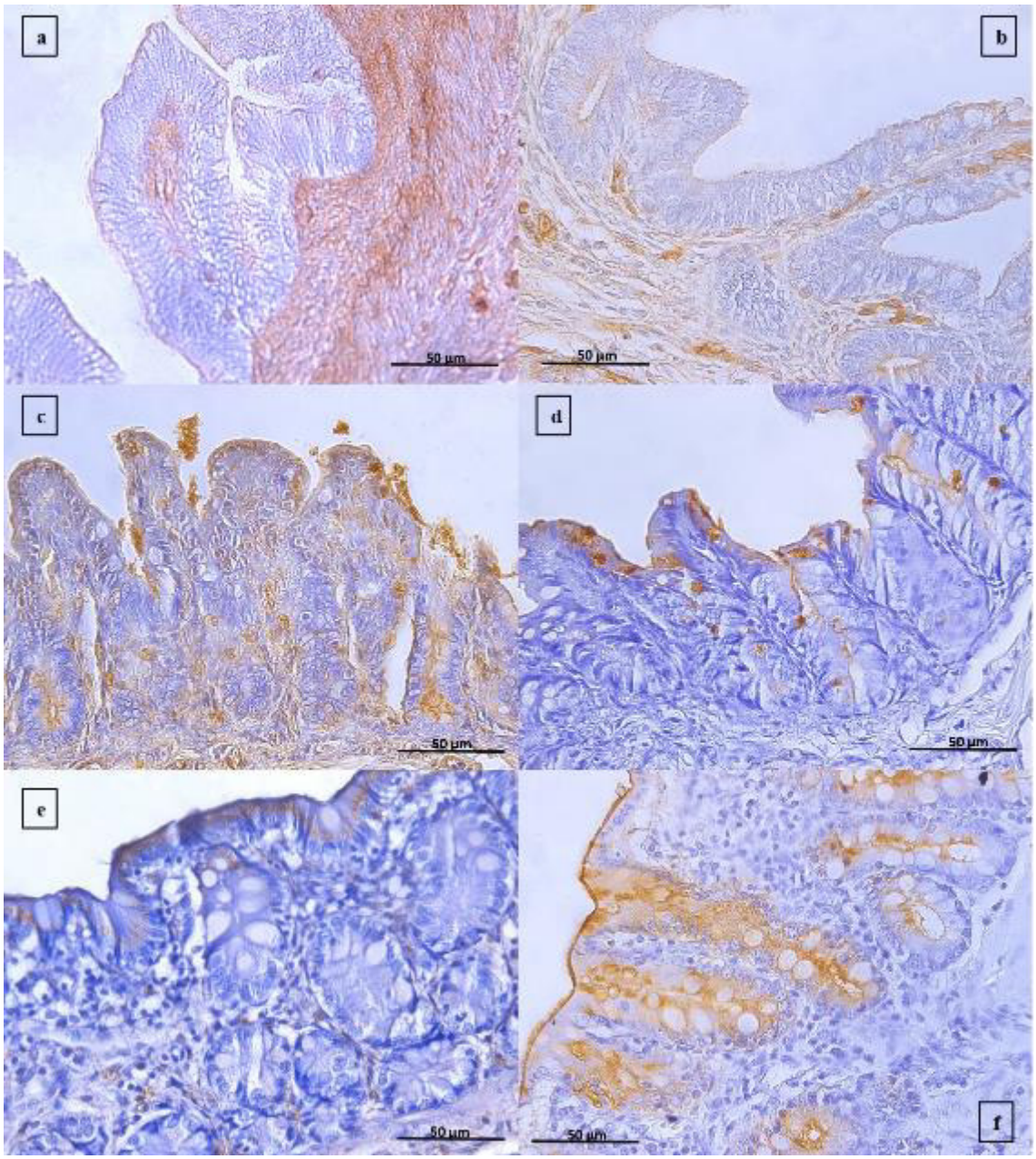


Figura 77: Marcación con lectina PNA en intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) colon descendente, 80 días; b) colon ascendente, 207 días; c) colon ascendente, 334 días. Etapa postnatal: d) colon ascendente, 1 día; e) colon ascendente; 30 días; f) ciego, 42 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

Cuadro 62: Patrón de unión de la lectina PNA al intestino delgado de alpacas.

Porción Intestinal		Duodeno						Yeyuno				Íleon			
Etapa	Edad	Evaginación						Evaginación				Evaginación			
				G	C					G	C			G	C
Fetal	F1T			3	0					3	0-1			3	0-1
	F2Ta			3	1-2					3	1			3	1
		Vellosidad		Cripta		GB		Vellosidad		Cripta		Vellosidad		Cripta	
		G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C
	F2Tb	3	1	2	1	-	-	2-3	1	0	0	3	0	0	0
	F3T	0	0	1-2	0	2	0	3	0	2-3	0	3	2	2	0-1
Postnatal, días	RN	0	0	2[1]	0	0	1	3	2	1	0	3	2	2	0
	1-7	0	1*	2[1]	0	0	3	2	2	0	0	2	2	1	0
	8-15	3	2	3[1]	0	0	2	2	2	0-2	0	2	2	2	0
	16-21	2	2	2[2]	0	0	2	1	1	2	0	2	2	2	0
	22-27	2	2	0-1	0	0	2	1	1	2	0	2	2	1	0
	28-36	2	2	0-1	0	0	2	1	2	2	0	1	2	1	0
	37-45	0-1	2*	0-2[1]	0	0	2	2	2	2	1	1-3	2	1	0
	Adultos	2	2*	0-1	0	0	2	2	2	2	1	1	2	1	0

*: Marcación con patrón granular

[1]: esta marcación solo se observa en algunas células de las criptas

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocálix, C: citoplasma, GB: glándulas de Brünner. 0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

Cuadro 63: Patrón de unión de la lectina PNA al intestino grueso de alpacas.

Porción Intestinal		Ciego				Colon Ascendente				Colon Transverso				Colon Descendente			
Etapa	**Edad**	**Evaginación**				**Evaginación**				**Evaginación**				**Evaginación**			
		G		**C**		**G**		**C**		**G**		**C**		**G**		**C**	
Fetal	F1T	3		1		0-1		0		0		0		0-3		0	
	F2Ta	2		0-1		0-1		0		3		0		3		1	
		Epitelio Superficial		**Cripta**		**Epitelio Superficial**		**Cripta**		**Epitelio Superficial**		**Cripta**		**Epitelio Superficial**		**Cripta**	
		G	**C**	**G**	**C**	**G**	**C**	**G**	**C**	**G**	**C**	**G**	**C**	**G**	**C**	**G**	**C**
	F2Tb	2	0	0	0	0-1	0-1	0	0	3	1	0	0	3	1	2	2
	F3T	2-3	1	0-2	0	0-1	0	2	0	0-2	0-2	0	0-1	2-3	0-2	2-3	2
Postnatal, días	RN	3	2	2	0	0	0-2	2^{1}	0	0	2	0	0	0-2	2	2	2
	1-7	3	2	0	$1^{1,2}$	0	0-2	2^{1}	0	0	2	0	2	0-1	2	0	2
	8-15	3	2	1^{1}	1^{1}	0	2*	0	0	0	2	0	2	0-3	2	0	2
	16-21	3	2	1^{1}	1^{1}	0	2*	0	0	0	2	0	1	0-3	2	0	2
	22-27	3	2	0	1^{1}	0	2*	0	0	0	2	0	2	0	2	0	2
	28-36	3	2	0	1^{1}	0	2*	0	0	3	2	0	2	0	2	0	2
	37-45	3	2	1^{1}	1^{1}	0	2*	0	2^{1}	3	2	0	2	2^{2}	2	0	2
	Adultos	3	2	1^{1}	1^{1}	0	1	0	1^{3}	0	1	0	1^{1}	0	0-1	0	2

*: Marcación con patrón granular
1: marcación solo se observa en criptas superficiales
2: marcación solo se observa en algunas células
3: marcación se observa en algunas células de la zona media de la cripta
F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocálix, C: citoplasma.
0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

6.3.2.7 Lectina WGA: En el intestino delgado, en el primer tercio y primera mitad del segundo tercio de gestación se observó marcación fuerte en glicocálix del epitelio de duodeno, yeyuno e íleon; y marcación moderada en el citoplasma de estas células (Figura 78a, b). A partir de la segunda mitad del segundo tercio de gestación, hasta la edad adulta, se observó marcación fuerte en el glicocálix de vellosidades de duodeno e íleon, especialmente desde la zona media hacia la punta de la vellosidad (Figura 78c, e). El citoplasma de estas células tuvo marcación moderada principalmente. En yeyuno se observó marcación fuerte en el glicocálix de las vellosidades en la etapa fetal, en crías entre los 8 a 21 días de edad y en animales adultos, y en el resto de edades la marcación fue moderada. En el citoplasma de las células de las vellosidades, la marcación fue moderada en la etapa fetal y en animales adultos y en crías fue leve.

El glicocálix de las criptas presentó marcación moderada en la etapa fetal en duodeno y yeyuno y entre moderada a fuerte en íleon. En crías, el glicocálix de las criptas en duodeno e íleon presentó marcación entre moderado a fuerte en crías y en adultos fue leve. En yeyuno, el glicocálix de las criptas presentó marcación moderada en crías hasta los 21 días de edad y a partir de ahí la marcación fue leve y el citoplasma de estas células fue moderada en la etapa fetal y leve en crías y adultos (Figura 78f). El glicocálix de las glándulas de Brünner presentaron marcación fuerte en fetos y en crías hasta los 21 días de edad para luego ser moderada al igual que el citoplasma en todas las edades (Figura 78d; Cuadro 64).

En intestino grueso, se observó marcación fuerte en glicocálix de evaginaciones y del epitelio superficial desde la etapa fetal hasta animales adultos, y marcación moderada en glicocálix de criptas en fetos y crías, en adultos solo se observó marcación leve en glicocálix de criptas de colon transverso. El citoplasma del epitelio en las evaginaciones en el primer tercio y primera mitad del segundo tercio presentó marcación leve en ciego y colon ascendente y moderado en colon transverso y descendente (Figura 79a, b). Se observó marcación moderada en el citoplasma de las células del epitelio superficial, desde la etapa fetal hasta la edad adulta, a excepción de colon transverso y descendente en fetos de tercer tercio de gestación donde no se observó marcación y colon descendente de adultos donde la marcación fue leve (Figura 79c, d).

En el caso del citoplasma de las células de las criptas, en fetos del segundo tercio de gestación se observó marcación moderada en colon ascendente y colon transverso y fuerte en colon descendente. En fetos de tercer tercio, se observó marcación moderada en colon transverso y leve en colon ascendente. En ciego se observó marcación leve en crías entre 1 a 7 días y de 16 a 27 días, y marcación moderada en las otras edades. En colon ascendente y transverso se observó una marcación variable entre leve a moderado, variando con las edades y por zonas, mientras que

en colon descendente se observó marcación moderada en todas las edades. En adultos, solo se observó marcación en colon ascendente y colon transverso (Figura 79e, f; Cuadro 65).

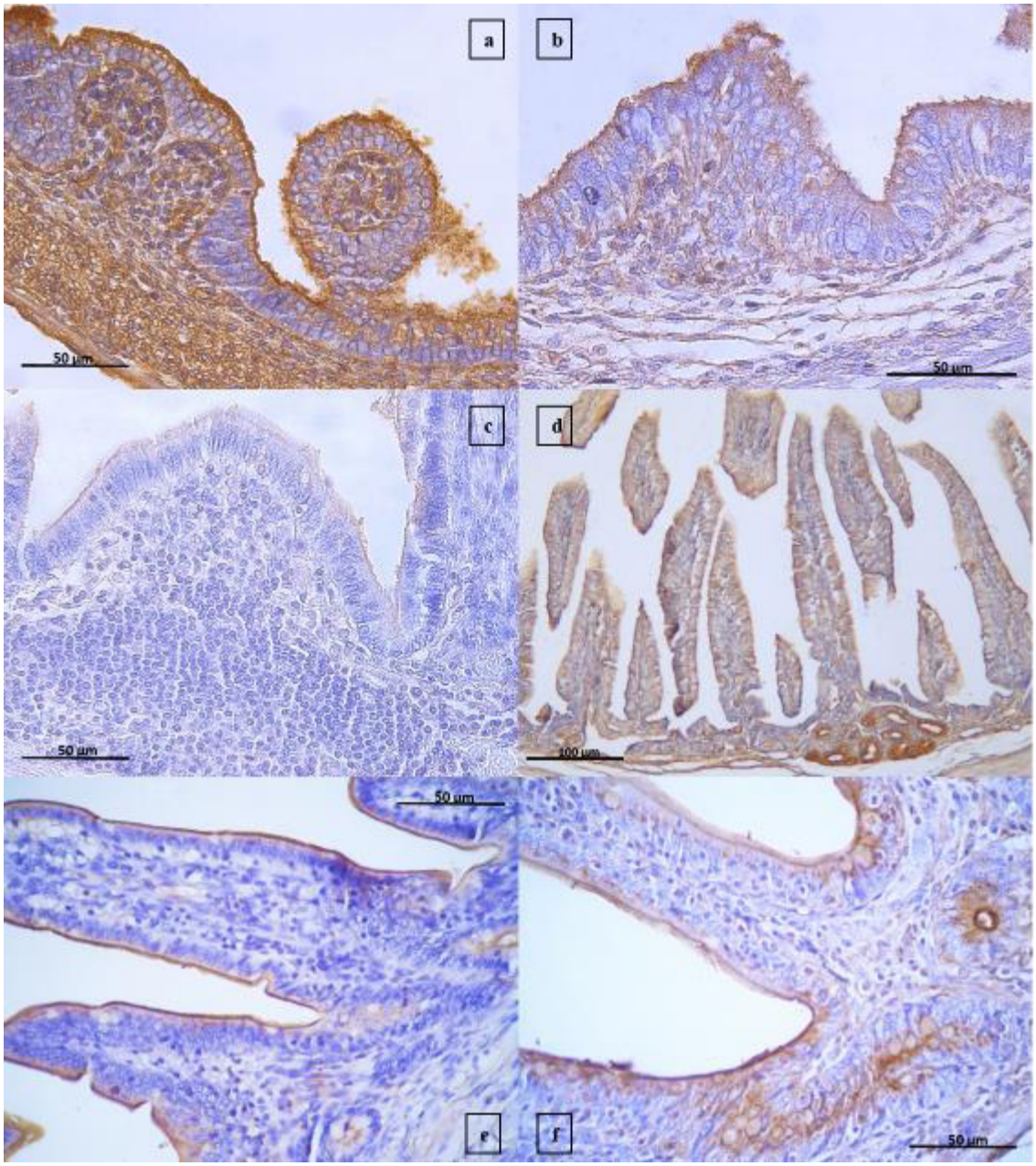


Figura 78: Marcación con lectina WGA en el intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: a) duodeno, 56 días, 40x; b) íleon, 141 días, 40x; c) íleon, 334 días, 40x. Etapa postnatal: d) duodeno, 0 días, 10x, e) íleon, 15 días, 40x, f) íleon, 37 días, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

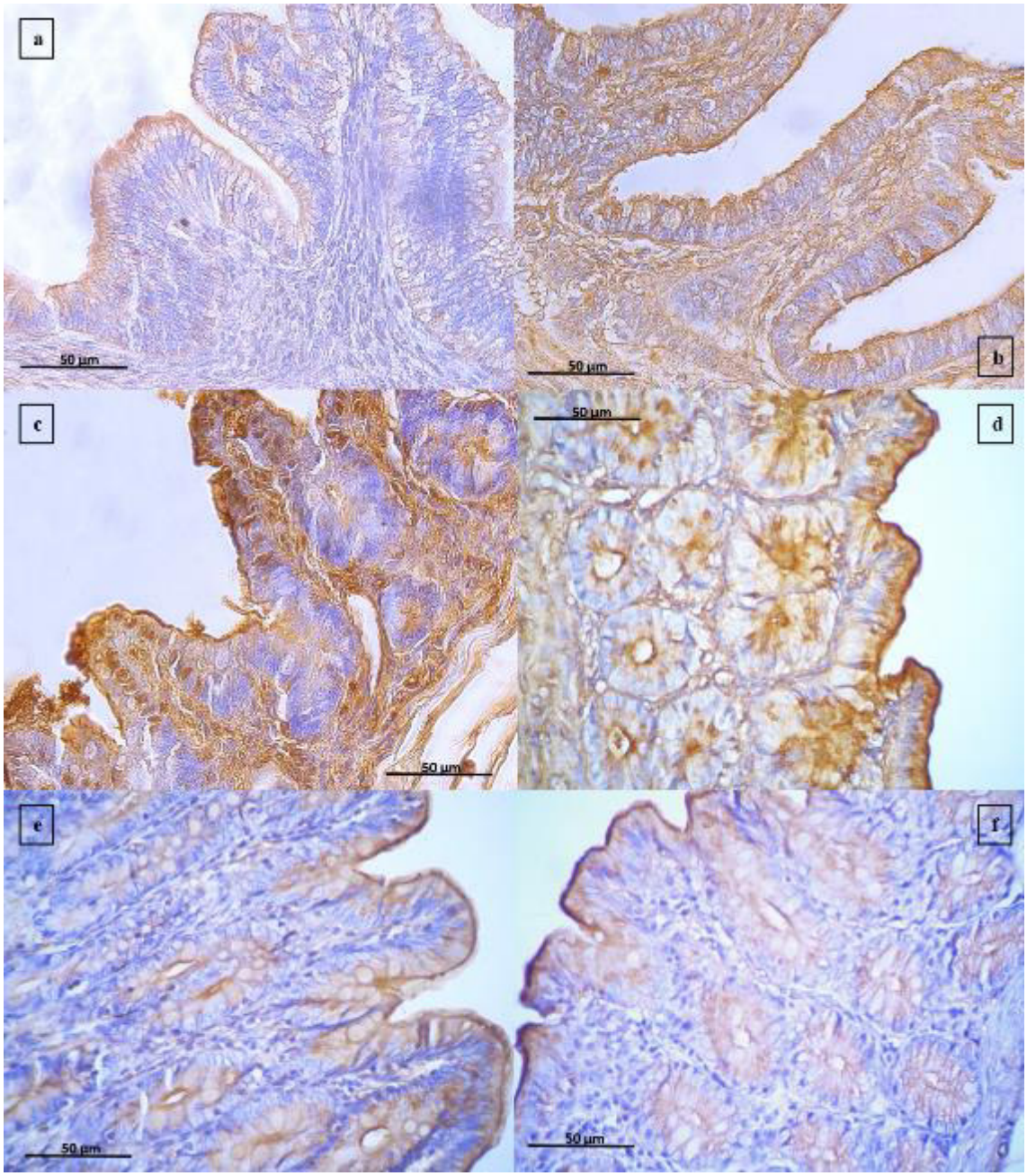


Figura 79: Marcación con lectina WGA en el intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) colon descendente, 80 días; b) colon descendente, 216 días; c) colon ascendente, 334 días. Etapa postnatal: d) ciego, 4 días; e) colon ascendente, 18 días; f) colon descendente, 31 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

Cuadro 64: Patrón de unión de la lectina WGA al intestino delgado de alpacas.

Porción Intestinal		Duodeno						Yeyuno				Íleon			
Etapa	Edad	Evaginación						Evaginación				Evaginación			
		G		C				G		C		G		C	
Fetal	F1T	3		2				3		2		3		2	
	F2Ta	2		2				3		2		2-3		1-2	
		Vellosidad		Cripta		GB		Vellosidad		Cripta		Vellosidad		Cripta	
		G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C
	F2Tb	3	2	2	2	-	-	3	2	2	2	2	1	2	0-2
	F3T	3	2	2	1-2	3	2	3	2	2	2	3	2	2-3	2
Postnatal, días	RN	3	1	2	2	3	2	2	1	2	1	3	2	3	2
	1-7	3	2	2	1	2	2	2	1	2	1	3	2	3	2
	8-15	3	2	2	1	2-3	2	3	1	2	1	3	1-2	2	1-2
	16-21	3	1-2	2-3	1-2	2-3	2	3	1	1-2	1	3	2	2-3	2
	22-27	3	2	3	1	2	2	2	1	1	1	3	1	2	1
	28-36	3	2	2	1	2	2	2	1	1	1	3	2	2	1
	37-45	3	2	3	2	2	2	2	1	1	1	3	1	2	1
	Adultos	3	2*	1	2*	2	2	3	2	1	1	3	1-2	1	1

*: Marcación con patrón granular

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocálix, C: citoplasma, GB: glándulas de Brünner. 0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

Cuadro 65: Patrón de unión de la lectina WGA al intestino grueso de alpacas.

Porción Intestinal		Ciego				Colon Ascendente				Colon Transverso				Colon Descendente			
Etapa	Edad	Evaginación				Evaginación				Evaginación				Evaginación			
		G		C		G		C		G		C		G		C	
Fetal	F1T	2-3		1		3		1		3		2		3		1-2	
	F2Ta	3		1-2		3		1		3		2		2-3		2	
		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta	
		G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C
	F2Tb	3	2	2	0	3	2	2	2	3	2	2	2	3	3	2	3
	F3T	3	2	2	0	3	2	3	1	3	0	2-3	2	3	0	2	0
Postnatal, días	RN	3	1	2	1	3	2	2	1	3	1	2	1	2	1	2	2
	1-7	3	2	2	1	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2
	8-15	3	2	2-3	2	3	2	2	1-2	3	2	2	1-2	3	2	2	2
	16-21	3	2	2	1	3	2	2	1-2	3	2	2	1	3	2	2	2
	22-27	3	2	2	1	3	2	2	1	3	2	2	1	3	2	2	2
	28-36	3	2	2	2	3	2	2	1	3	2	2	2	3	2	2	2
	37-45	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2
	Adultos	3	2*	0	0	2	0	0	0	3	2	1	1-2*	3	2	0	1

*: Marcación con patrón granular

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocálix, C: citoplasma.

0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

6.3.2.8 Lectina SWGA: Esta lectina presentó un patrón de unión variable entre las diferentes porciones intestinales. En el intestino delgado, durante el primer tercio de gestación, se observó marcación en el glicocálix y en el citoplasma de las células epiteliales del duodeno y el íleon, esta reactividad se observó en la base de las evaginaciones (Figura 80a). En el duodeno, durante el segundo y tercer tercio de gestación no se observó marcación, y a partir de los ocho días de edad post nacimiento fueron positivos el glicocálix y el citoplasma de las células de las vellosidades.

En las criptas se marcaron el glicocálix y el citoplasma de algunas células desde el segundo tercio de gestación hasta la adultez (Figura 80b). Las células de las glándulas de Brünner mostraron marcación fuerte en glicocálix y entre moderada a fuerte en su citoplasma, en todas las edades (Figura 80d). En el yeyuno se observó marcación en el glicocálix y el citoplasma de las células de las vellosidades desde el nacimiento hasta la edad adulta, la reactividad varió entre leve a fuerte según la edad (Figura 80e). En el caso de las criptas, la positividad se encontró en el glicocálix y el citoplasma de las células que lo conforman, en todas las edades.

En el íleon se observó marcación en el glicocálix y en el citoplasma de las células de las vellosidades desde el tercer tercio de gestación, generalmente fue fuerte en el glicocalix y moderada en el citoplasma (Figura 80 c). Las células de las criptas mostraron marcación desde el tercer tercio de gestación en el glicocálix y a partir del nacimiento en el citoplasma. En las crías y los adultos la marcación del glicocálix fue fuerte y la del citoplasma fue leve (Figura 80f; Cuadro 66).

En el intestino grueso, no se observó marcación en el primer tercio y la primera mitad del segundo tercio de gestación. En la segunda mitad del segundo tercio de gestación solo se observó marcación en el citoplasma de algunas células del epitelio superficial del colon transverso y colon descendente. En el ciego, se marcó el glicocálix del epitelio superficial y de las criptas desde el tercer tercio de gestación. Esta positividad se encontró en algunas células, hasta los 15 días post nacimiento, a partir de ese momento la marcación fue generalmente moderada. El citoplasma se marcó a partir del día 1 post nacimiento con un patrón granular. En el colon ascendente se observó marcación en el epitelio superficial desde el tercer tercio de gestación y en criptas desde el nacimiento. La marcación del glicocálix del epitelio superficial fue principalmente fuerte y en la cripta fue moderada. En el citoplasma de las células del epitelio superficial la intensidad de marcación fue moderada y en la cripta leve y con patrón granular.

En colon transverso, en el tercer tercio de gestación, así también se observó marcación con patrón granular en el citoplasma de algunas células del epitelio superficial a partir de los 22 días de edad, y en criptas a partir de los 16 días de edad. En colon descendente se observó

marcación en el glicocálix de algunas células del epitelio superficial en crías de 37 a 45 días y con patrón granular en el citoplasma en estas crías y en adultos. En criptas se observó una positividad variable en algunas edades, principalmente con patrón granular (Figura 81, Cuadro 67).

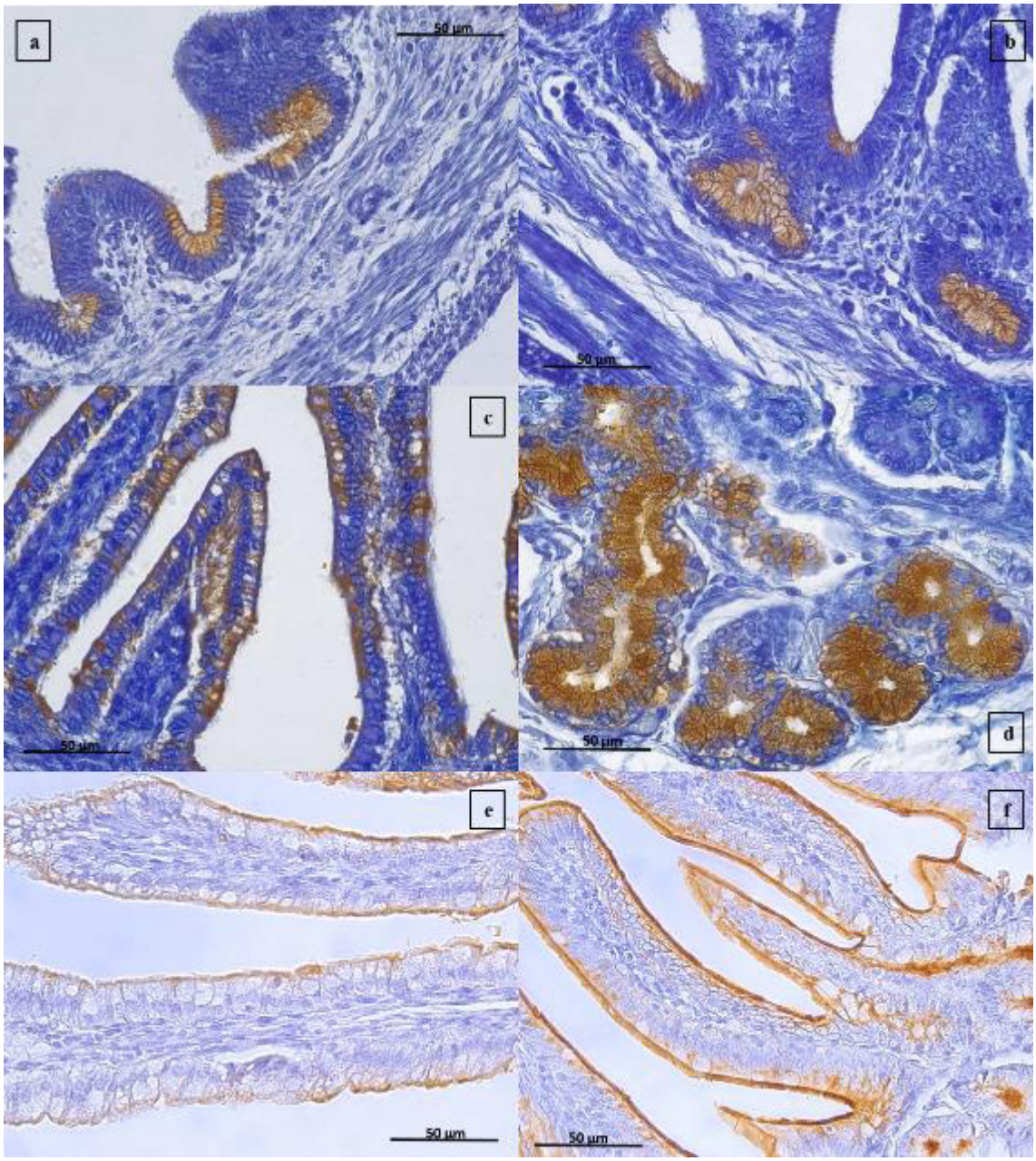


Figura 80: Marcación con lectina SWGA en el intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: a) duodeno, 103 días; b) duodeno, 216 días; c) íleon, 325 días; d) duodeno 330 días. Etapa postnatal: e) yeyuno, 1 día; f) íleon, 45 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

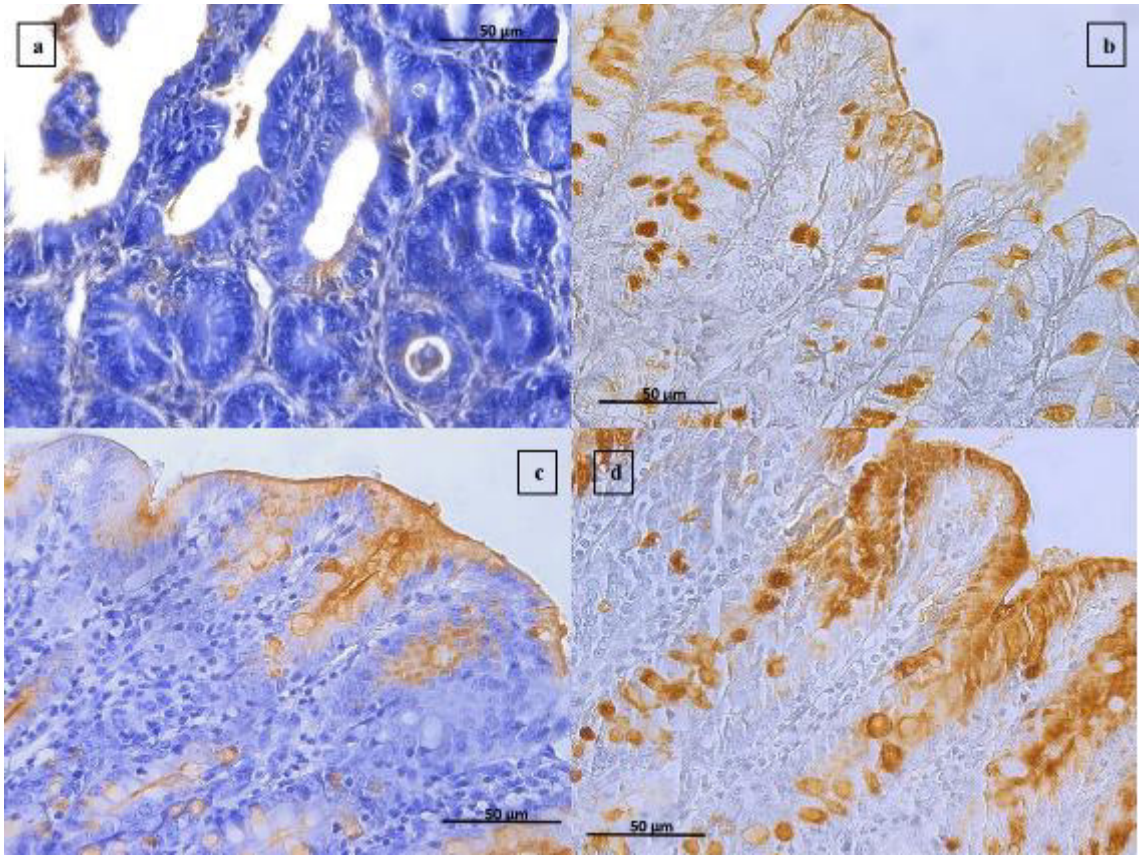


Figura 81: Marcación con lectina SWGA en el intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) colon ascendente, 334 días. Etapa postnatal: b) colon ascendente 4 días, c) ciego, 37 días; d) ciego, 42 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

Cuadro 66: Patrón de unión de la lectina SWGA al intestino delgado de alpacas.

Porción Intestinal		Duodeno						Yeyuno				Íleon			
Etapa	Edad	Evaginación						Evaginación				Evaginación			
				G	C					G	C			G	C
Fetal	F1T			0-1	0-2					0	0			0-2	0
	F2Ta			0	0					0	0			0	0
		Vellosidad		Cripta		GB		Vellosidad		Cripta		Vellosidad		Cripta	
		G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C
	F2Tb	0	0	0-2	1	-	-	0	0	0-2	0-2	0	0	0	0
	F3T	0	0	0-2	0	2-3	2-3	0	0	0-2	0-2	2-3	1-2	1	0
Postnatal, días	RN	0	0	0	0	3	3	1	0-1	0-2	0-1	0	0	3	1
	1-7 días	0	0	0-1	0	3	2	2	1	2	1	2	1	3	1
	8-15 días	2	1	0-3	0	3	2	2	1	2	0	3	2	3	1
	16-21 días	3	1	2	1	3	3	2	1	2	1	3	1	3	1
	22-27 días	0-2	0	2	0	3	2-3	0	0	1	0	3	1-2	2-3	0-1
	28-36 días	0-3	0	0-2	0	3	2-3	1	2*	2	2*	3	1	3	1
	37-45 días	0-2	0	0-2	0-2	3	2	0-3	2	3	1-2	3	2	3	2
	Adultos	0-2	0	0-2	0-2	3	2	0	2	3	2	2-3	1	3	1-2

*: Marcación con patrón granular

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocálix, C: citoplasma, GB: glándulas de Brünner.

0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

Cuadro 67: Patrón de unión de la lectina SWGA al intestino grueso de alpacas.

Porción Intestinal		Ciego				Colon Ascendente				Colon Transverso				Colon Descendente			
Etapa	Edad	Evaginación				Evaginación				Evaginación				Evaginación			
		G		C		G		C		G		C		G		C	
Fetal	F1T	0		0		0		0		0		0		0		0	
	F2Ta	0		0		0		0		0		0		0		0	
		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta	
		G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C
	F2Tb	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0-1	0	0	0	0-2	0	0
	F3T	0-2	0	1-2	0	1-2	1-2	0	0	0-1	0-2	0	0	0	0	0	0
Postnatal, días	RN	0	0	0	0	2-3	0-1	2-3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1-7	0-2	1	2	0-1	3	2	0-2	1*	0	0	0	0	0	0	0	0-1*
	8-15	0	2*	0	2*	2	1-2	1-2	0-1*	0	0	0	0	0	0	0	0
	16-21	2	2	2	1*	3	2	3	1-2	0	0	0	0-2*	0	0	0	0-2*
	22-27	2	2	2	0	2	2	2	1	0	0-2*	0	0-2*	0	0	0	0-1*
	28-36	3	2	3	1*	2	1	2	1	0	0-2*	0	0-2*	0	0	0	0
	37-45	3	2*	3	2*	2-3	2*	2	2*	0	0-2*	0	0-2*	0-1	0-2*	0	0-2*
	Adulto	2	2*	3	2*	2	2*	2	2*	0	0-2*	0	0-2*	0	0-2*	0	0-2*

*: Marcación con patrón granular

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocálix, C: citoplasma, GB: glándulas de Brünner.

0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

6.3.2.9 Lectina UEA-1: En el intestino delgado se observó marcación desde el primer tercio de gestación en el glicocálix del epitelio de yeyuno, a partir del segundo tercio en duodeno y partir del tercer tercio de gestación en íleon. En duodeno, la marcación fue principalmente en criptas y glándulas de Brünner donde se observa marcación moderada a fuerte en glicocálix y citoplasma. Las vellosidades tuvieron marcación en algunas células en glicocálix y citoplasma (Figura 82a, b). En yeyuno, la marcación fue más uniforme en vellosidades y criptas, siendo esta principalmente fuerte en glicocálix y moderada en citoplasma. En íleon, la marcación del glicocálix de las vellosidades fue por zonas, así como en el citoplasma marcaron algunas células. En criptas la marcación también fue variable, observándose en algunas células siendo leve a moderado en la mayoría de edades (Figura 82c, d; Cuadro 68).

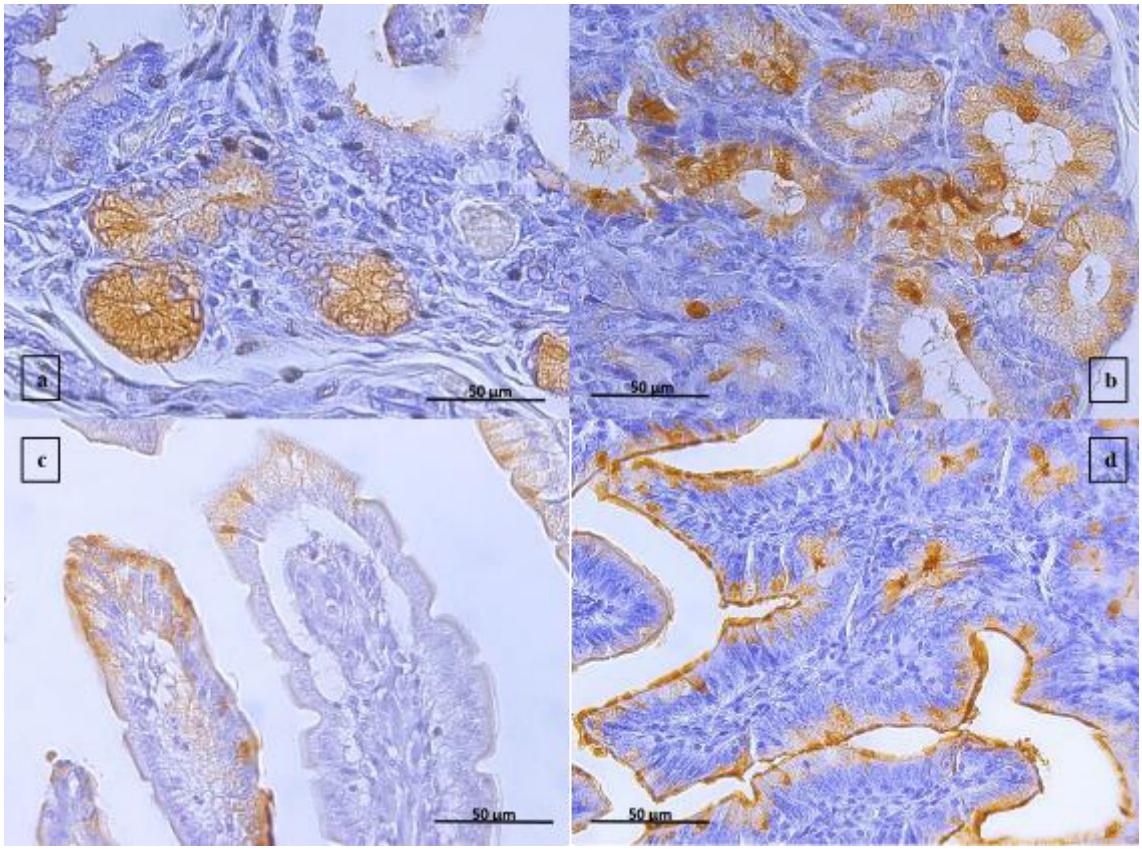


Figura 82: Marcación con lectina UEA-1 en intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: a) duodeno, 325 días. Etapa postnatal: b) duodeno, 7 días; c) íleon, 7 días; d) íleon, 45 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

En el intestino grueso, la marcación fue variable. En el ciego durante el primer y segundo tercio de gestación se observó marcación en el glicocálix. En el tercer tercio de gestación no se observó marcación, y en las crías esta comenzó a partir del primer día de vida tanto en las vellosidades como en las criptas (Figura 83c) y en adultos solo se observó marcación en algunas células de las criptas. En colon ascendente, se observó marcación en glicocálix a partir del tercer tercio de gestación y en el citoplasma a partir del día 1 de edad, siendo esta marcación entre moderada a fuerte en glicocálix; en adultos solo se observó marcación en el glicocálix de algunas células de las criptas (Figura 83a). En colon transverso la marcación fue principalmente en el citoplasma de las células de las criptas y por zonas en el glicocálix. En el colon descendente la marcación fue en el citoplasma de las células de las criptas superficiales y en algunas células del resto de la cripta, siendo esta marcación de forma moderada (Figura 83b, d; Cuadro 69).

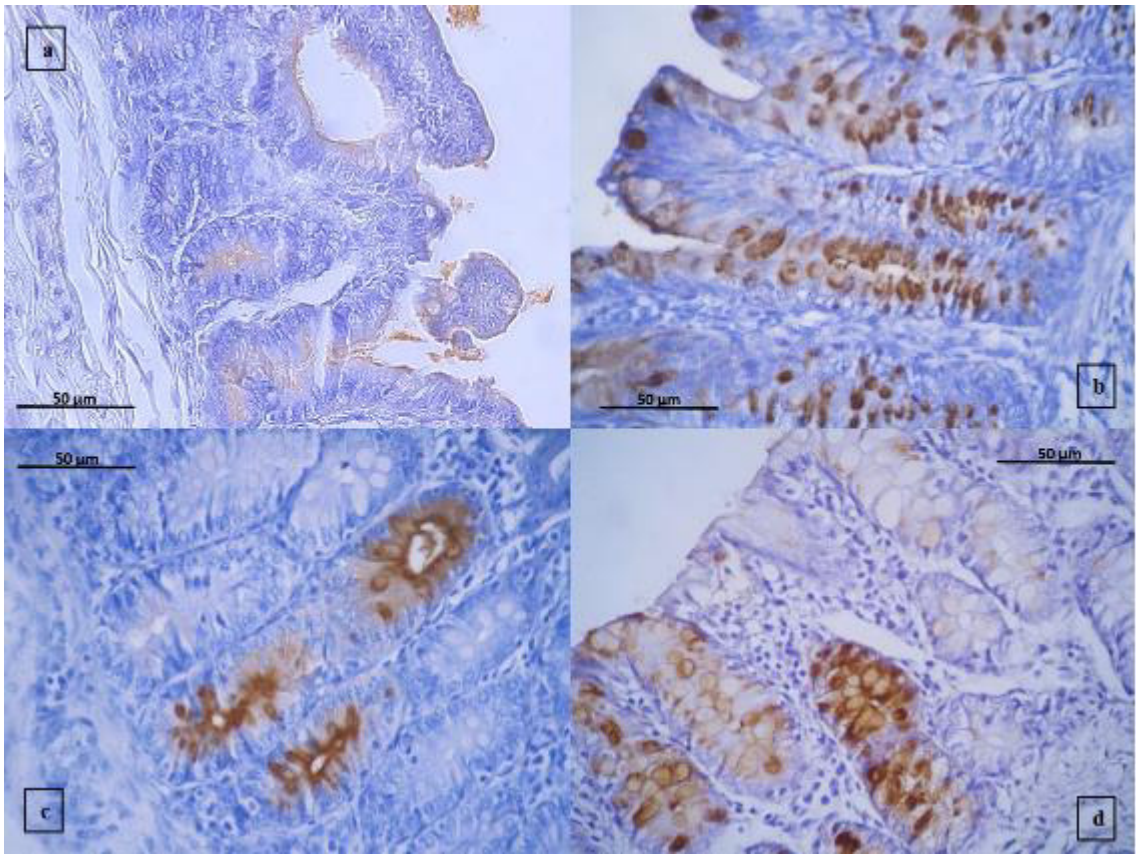


Figura 83: Marcación con lectina UEA-1 en el intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) colon ascendente, 334 días. Etapa postnatal: b) colon descendente, 3 días; c) ciego, 18 días; d) colon descendente, 37 días. 40x. coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

Cuadro 68: Patrón de unión de la lectina UEA-1 al intestino delgado de alpacas.

Porción Intestinal		Duodeno						Yeyuno				Íleon			
Etapa	Edad	Evaginación						Evaginación				Evaginación			
		G		C				G		C		G		C	
Fetal	F1T	0		0				0-2		0		0		0	
	F2Ta	0-2		0-1				0-2		0		0		0	
		Vellosidad		Cripta		GB		Vellosidad		Cripta		Vellosidad		Cripta	
		G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C
	F2Tb	0	0	1-2	1-2	-	-	0	0	2	0	0	0	0	0
	F3T	0	0	0	0	2	1	0	0	2	0	1-3	0-1	3	0-1
Postnatal, días	RN	0	0	0	0	0	3	3	2	0	0	0-2	0-2	0-1	0
	1-7	1-3	0-2	2-3	0-2	2-3	2	3	1-2	0	0	0-2	0-2	0-1	0
	8-15	0-3	0-2	2	2	2-3	1	3	1	2	2	0-3	1	2	1
	16-21	0-3	0-2	0-2	1	2	3	2	2-3	2	3	0-3	0-2	1-3	0-2
	22-27	0-3	0-2	0-1	0-1	2	3	2	2	2	2	0-3	2	2	1
	28-36	0-3	0-2	0-1	0-1	2-3	2	3	2-3	2-3	1	1-3	1-2	0-2	0
	37-45	0-3	0-2	0-1	0-2	2	2	3	2	2	2-3	1-3	1-2	0-2	0-2
	Adultos	0-3	0-2	2	0	2	2	3	0	1	0	1-3	1-2	2	1

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocálix, C: citoplasma, GB: glándulas de Brünner.
0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

Cuadro 69: Patrón de unión de la lectina UEA-1 al intestino grueso de alpacas.

Porción Intestinal		Ciego				Colon Ascendente				Colon Transverso				Colon Descendente			
Etapa	Edad	Evaginación				Evaginación				Evaginación				Evaginación			
		G		C		G		C		G		C		G		C	
Fetal	F1T	0-2		0		0		0		2		1		0-2		0	
	F2Ta	2		0		0		0-2		0-2		0		2-3		0-1	
		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta	
		G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C
	F2Tb	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	F3T	0	0	0	0	1-2	0	0-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Postnatal, días	RN	0	0	0	0	1[3]	0	2[3]	0	2[3]	0	2[3]	0	0	0	0	2[1,2]
	1-7	1	1-2[3]	3	2	2-3[3]	2[3]	1[2,3]	0	0	0	2[2,3]	2[2]	0	0	0	2[2]
	8-15	2-3	1-2	3	2	2-3[3]	2[3]	2-3[3]	1-2	0	0	0	2[2,3]	0	0	0	2[2]
	16-21	1-2	1-2	3	1	3	2	2	1	0	0	0-3[3]	2[2,3]	0	0	0	2[1,2]
	22-27	1	1	3	2	2	2	2	1	0	0	0-3	2[2,3]	0	0	0	2[2]
	28-36	2	1	3	2	2	1	2	1	0	0	0-2	2[2,3]	0	0	0	2[2]
	37-45	0-2	0	0-2	0-1	3	1	2	2	0-3	0-2	0-2	2[2,3]	0	0	0	2[2]
	Adultos	0	0	0	0-1	0	0	0-2	0	0	0	0	2[3]	0	0	0	2[2]

[1]: esta marcación sólo se observa en criptas superficiales
[2]: esta marcación solo se observa en algunas células de las criptas
[3]: Marcación por zonas
F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocalix, C: citoplasma.
0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

6.3.2.10 Lectina Con A: En el intestino delgado se observó marcación fuerte en el glicocálix de las células epiteliales de las evaginaciones y las vellosidades desde el primer tercio de gestación, con un citoplasma con marcación moderada. En el caso de las criptas, de las tres porciones del intestino delgado, la marcación fue moderada y se observó desde la etapa fetal hasta los 45 días tanto en el glicocálix como en el citoplasma. En el caso de adultos no se observó marcación del glicocálix de las criptas (Figura 84; Cuadro 70).

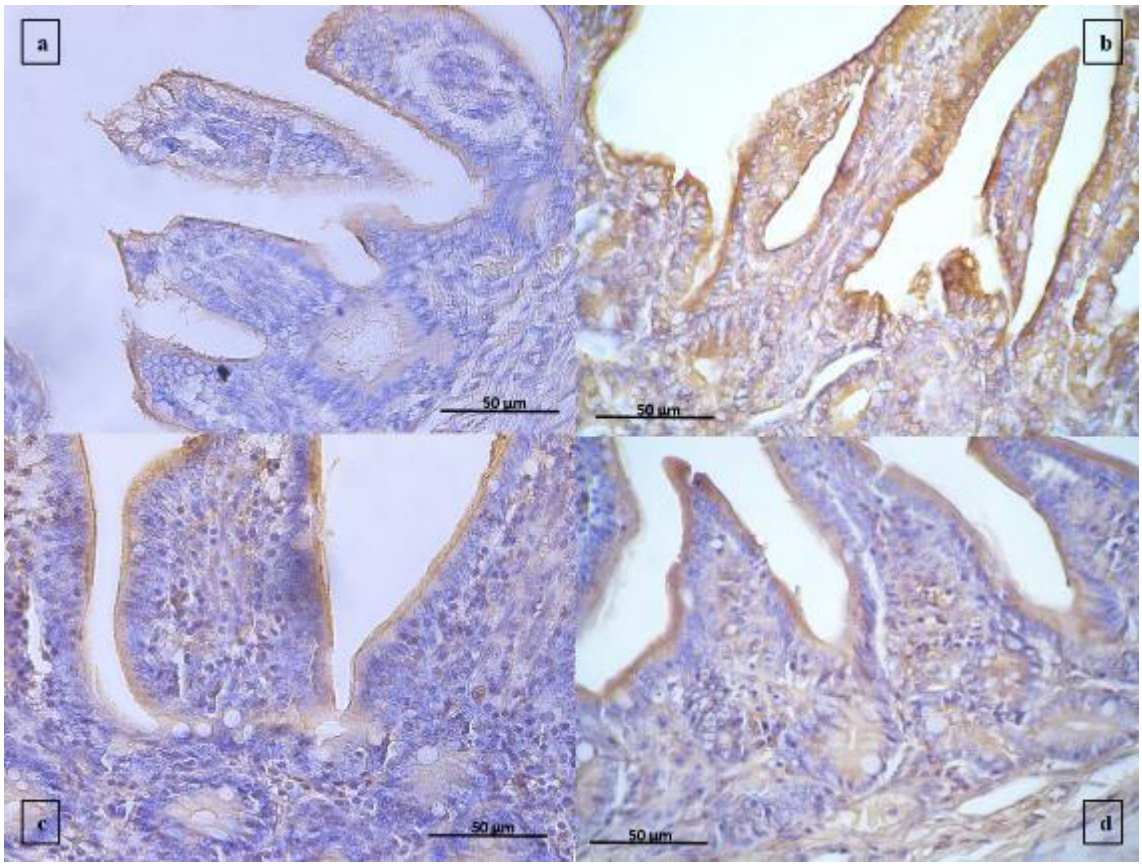


Figura 84: Marcación con la lectina Con A en el intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: a) yeyuno, 296 días. Etapa postnatal: b) duodeno, recién nacido; c) íleon, 15 días; d) duodeno, 37 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

En el intestino grueso, la marcación fue muy similar a la encontrada en el intestino delgado. El glicocálix de las células de las evaginaciones en los primeros tercios de gestación y del epitelio superficial desde la etapa fetal, tuvieron una marcación fuerte en todas las porciones intestinales mientras que el citoplasma tuvo marcación moderada. El glicocálix de las criptas, presentaron marcación moderada desde la etapa fetal hasta crías, en adultos no se observó marcación. El citoplasma de las células de la cripta fue leve en la etapa fetal y adultos y moderado en crías (Figura 85; Cuadro 71).

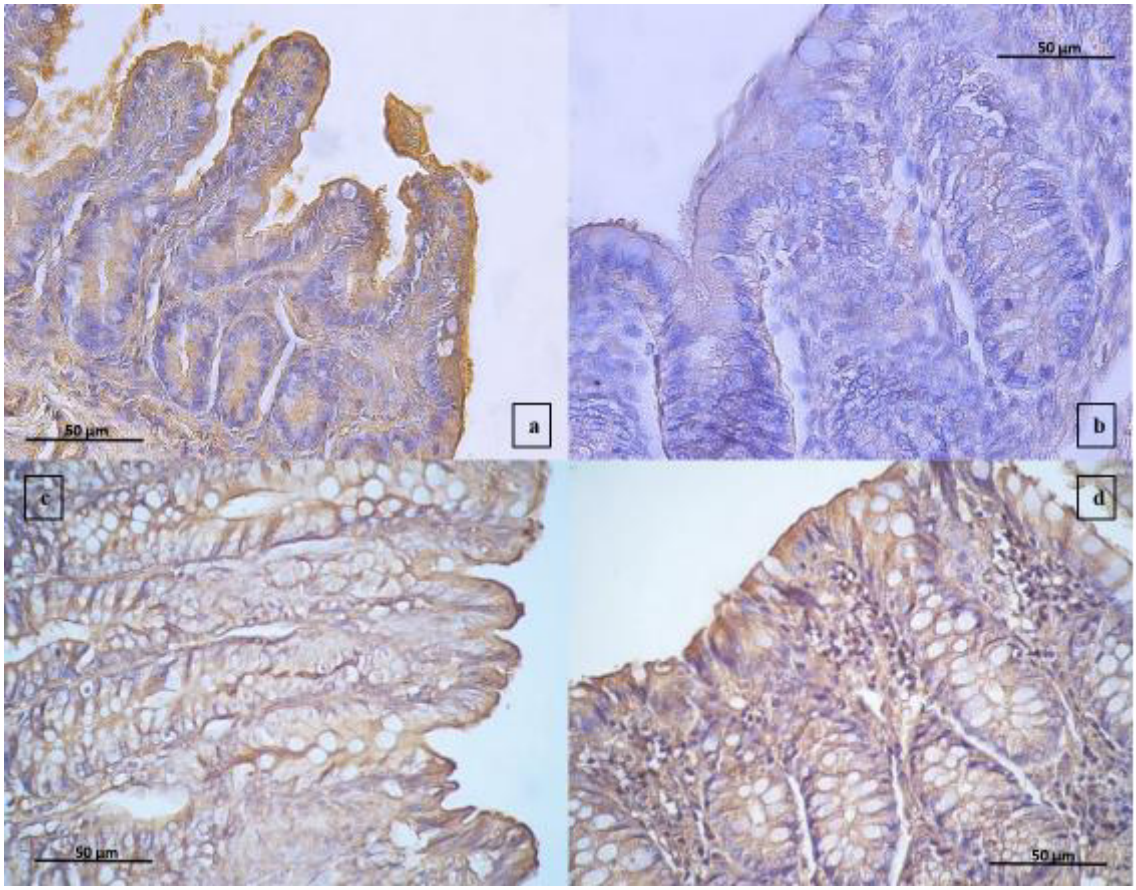


Figura 85: Marcación con lectina Con A en el intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) colon ascendente, 334 días; b) colon descendente, 334 días. Etapa postnatal: c) ciego, 5 días, d) colon descendente, 37 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

Cuadro 70: Patrón de unión de la lectina Con A al intestino delgado alpacas.

Porción Intestinal		Duodeno						Yeyuno				Íleon			
Etapa	Edad	Evaginación						Evaginación				Evaginación			
				G	C					G	C			G	C
Fetal	F1T			3	1					2-3	2			3	2
	F2Ta			3	2					3	2			3	2
		Vellosidad		Cripta		GB		Vellosidad		Cripta		Vellosidad		Cripta	
		G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C
	F2Tb	2	2	1	1	-	-	3	2	1	1	3	2	2	2
	F3T	3	2	2	1	1	0	3	2	1	1	3	2	2	2
Postnatal, días	RN	3	2	2	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2
	1-7	2	2	2	2	1	1	2	2	2	2	3	2	2	2
	8-15	2-3	2	2	2	1-2	1-2	2-3	2	2	2	3	2	2	2
	16-21	3	2	2	2	2	2	3	2	2	2	2-3	2	2	2
	22-27	3	2	2	2	1	1	3	2	2	2	3	2	2	2
	28-36	3	2	2	2	1	1	3	2	2	2	3	2	2	2
	37-45	2-3	2	2	2	2	1	3	2	2	2	3	2	2	1
	Adultos	2	2	0	2	1-2	0-1	3	2	0	1	2	2	0	1

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocálix, C: citoplasma, GB: glándulas de Brünner.

0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

Cuadro 71: Patrón de unión de la lectina Con A al intestino grueso de alpacas.

Porción Intestinal		Ciego				Colon Ascendente				Colon Transverso				Colon Descendente			
Etapa	Edad	Evaginación				Evaginación				Evaginación				Evaginación			
		G		C		G		C		G		C		G		C	
Fetal	F1T	3		2		3		0-2		3		2		3		2	
	F2Ta	3		2		3		2		3		2		3		2	
		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta	
		G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C
	F2Tb	3	2	1	1	3	2	2	1	3	2	2	1	2	1	2	1
	F3T	3	1-2	1	1	3	2	1-2	1	3	2	2	1	2	1	2	1
Postnatal, días	RN	2	2	1	1	3	2	2	1	3	2	2	1	3	2	2	2
	1-7	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	1	3	2	2	2
	8-15	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	1-2	3	2	2	2
	16-21	3	2	2	1-2	3	2	2	1-2	3	2	2	1-2	3	2	2	2
	22-27	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	1	3	2	2	2
	28-36	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2
	37-45	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	1	3	2	2	2
	Adultos	2	2	0	1	2	2	0	1	2	2	0	1	2	2	0	1

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocálix, C: citoplasma.
0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

6.3.2.11 Lectina LCA: La lectina LCA tuvo afinidad, especialmente, por el glicocálix de las células epiteliales intestinales. En el intestino delgado se observó marcación del glicocálix de las evaginaciones, las vellosidades y las criptas desde el primer tercio de gestación, siendo esta leve o moderada. También se encontró marcación leve en el citoplasma de algunas células en vellosidades y criptas. Las glándulas de Brünner no presentaron marcación (Figura 86; Cuadro 72).

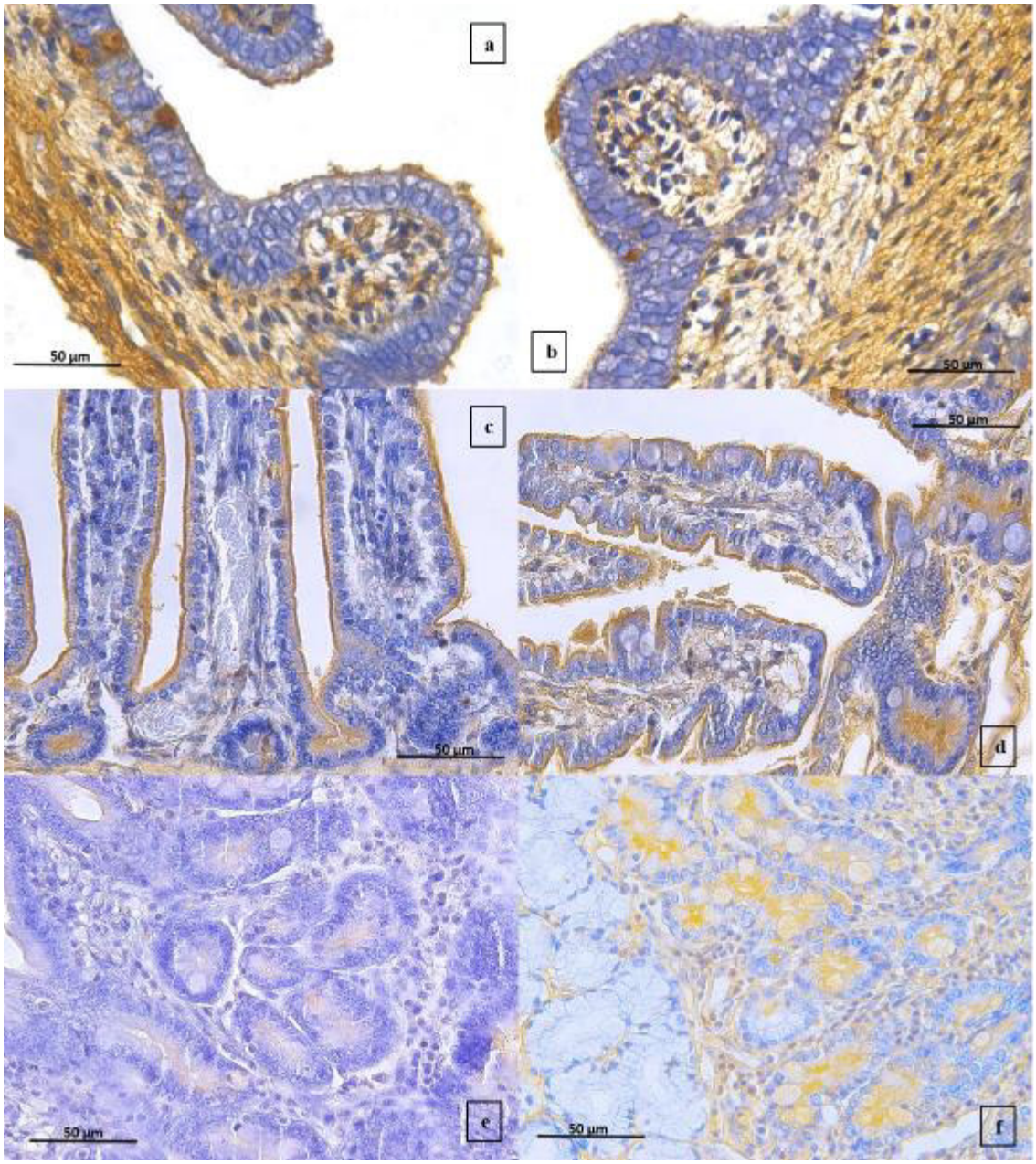


Figura 86: Marcación con lectina LCA en el intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: a) duodeno 80 días, 63x; b) duodeno, 119 días, 63x; c) yeyuno, 330 días, 40x. Etapa postnatal: d) duodeno, recién nacido, 40x; e) duodeno, 33 días; 40x; f) duodeno, adulto, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

En el intestino grueso, la marcación fue muy variable, se observó en algunas células y zonas tanto en el glicocálix como en el citoplasma del ciego y del colon. Se destaca la marcación leve o moderada en el glicocálix del epitelio superficial y de las criptas del ciego y del colon ascendente. En el caso del colon transverso y el colon descendente, la marcación fue muy específica en algunas células de algunas edades (Figura 87; Cuadro 73).

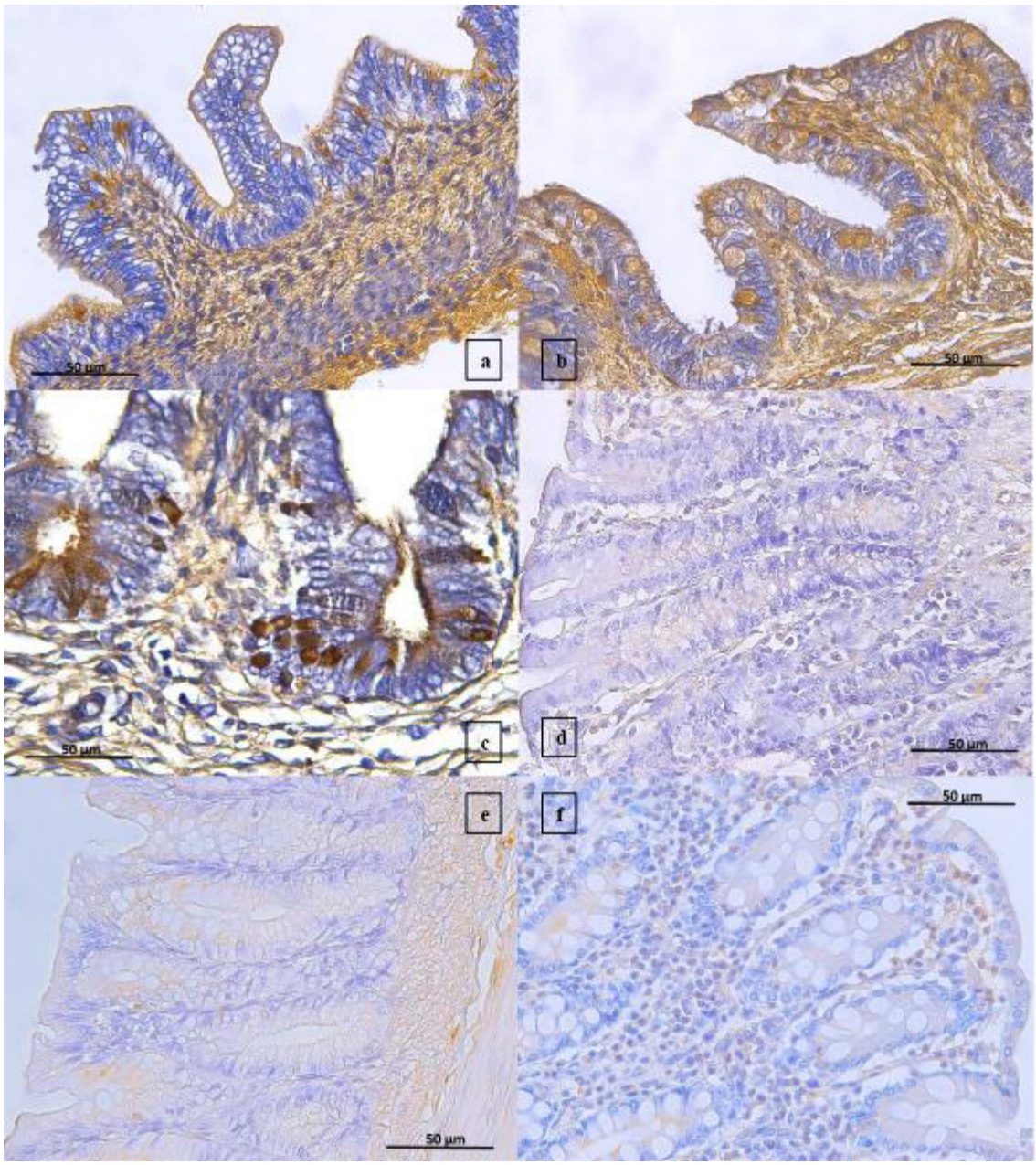


Figura 87: Marcación con lectina LCA en intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) colon descendente, 80 días; 40x; b) colon descendente, 216 días; 40x; c) ciego, 230 días, 63x. Etapa postnatal: d) ciego, 17 días, 40x; e) colon transverso, 15 días, 40x; f) ciego, adulto, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

Cuadro 72: Patrón de unión de la lectina LCA al intestino delgado de alpacas.

Porción Intestinal		Duodeno						Yeyuno				Íleon			
Etapa	Edad	Evaginación						Evaginación				Evaginación			
				G	C					G	C			G	C
Fetal	F1T			0-2	0-1					1-2	1-2			0-2	1-2
	F2Ta			0-2	0-2					1-2	1-2			0-3	0-2
		Vellosidad		Cripta		GB		Vellosidad		Cripta		Vellosidad		Cripta	
		G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C
	F2Tb	2	0-1	1	0	-	-	0-1	0	0	0	1-2	0	1	0
	F3T	2-3	0-1	2	0-1	0	0	0-3	0-1	1	1	2-3	0	1	1
Postnatal, días	RN	2	0	2	0	0	0	3	1	1	0	1	1	0	0
	1-7	2	0	1	0	0	0	2	0-1	1	0	1	0-1	0-1	0
	8-15	1	0	1	0	0	0	1-2	0-1	1-2	0	1	0	0-1	0
	16-21	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	2	0	1	0
	22-27	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0
	28-36	2	0	1-2	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0-1	0
	37-45	1	0	1	0	0	0	1	0	1-2	0	1	0	1	0
	Adultos	0-2	0-1	0-1	1-2	0	0	0-2	1	1	2	0-1	0-1	1	1

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocálix, C: citoplasma, GB: glándulas de Brünner.
0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

Cuadro 73: Patrón de unión de la lectina LCA al intestino grueso de alpacas.

Porción Intestinal		Ciego				Colon Ascendente				Colon Transverso				Colon Descendente			
Etapa	Edad	Evaginación				Evaginación				Evaginación				Evaginación			
		G		C		G		C		G		C		G		C	
Fetal	F1T	0-2		0-1		0		0		0-2		0		0-2		0-2	
	F2Ta	0-2		0-1		0-2		0-1		1-2		1-2		1-2		1-2	
		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta	
		G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C
	F2Tb	1-2	0-2	1	0-1	0-2	0-1	2	0	1-2	0-1	1	1	0-2	0-1	0	0
	F3T	0-1	0	0-1	0-1	0-2	0-1	2	0	0	0	0	0	1	0-1	1-2	1
Postnatal, días	RN	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1-7	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0-1	0	1	0	0	0
	8-15	0-1	0	1-2	0	1	0	1-2	0	1	0-1	0-2	0-1	1	0	0-1	0
	16-21	0-1	0	1-2	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0-1	0-1	0-1
	22-27	1	0	1-2	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0-1	0-1	0-1
	28-36	1	1	2	1	1	0	1-2	0	0	0	0	0	0	0-1	0-1	0-1
	37-45	1	0	1	0	1-2	0-1	0-2	0	0	0-1	0	0	0-3	0-1	0-2	0-2
	Adultos	0-1	0-1	1-2	1	1	1	1	0-1	1	1	1	0-1	1	1	1-2	1

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocálix, C: citoplasma.
0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

6.3.2.12 Lectina PSA: La lectina PSA tuvo afinidad muy específica por algunas células del epitelio intestinal. En el intestino delgado se observó marcación desde el primer tercio de gestación en el yeyuno e íleon, y a partir del segundo tercio de gestación en el duodeno. En las crías esta marcación desaparece, observándose solamente en algunas células de algunas edades, principalmente en los adultos (Figura 88; Cuadro 74).

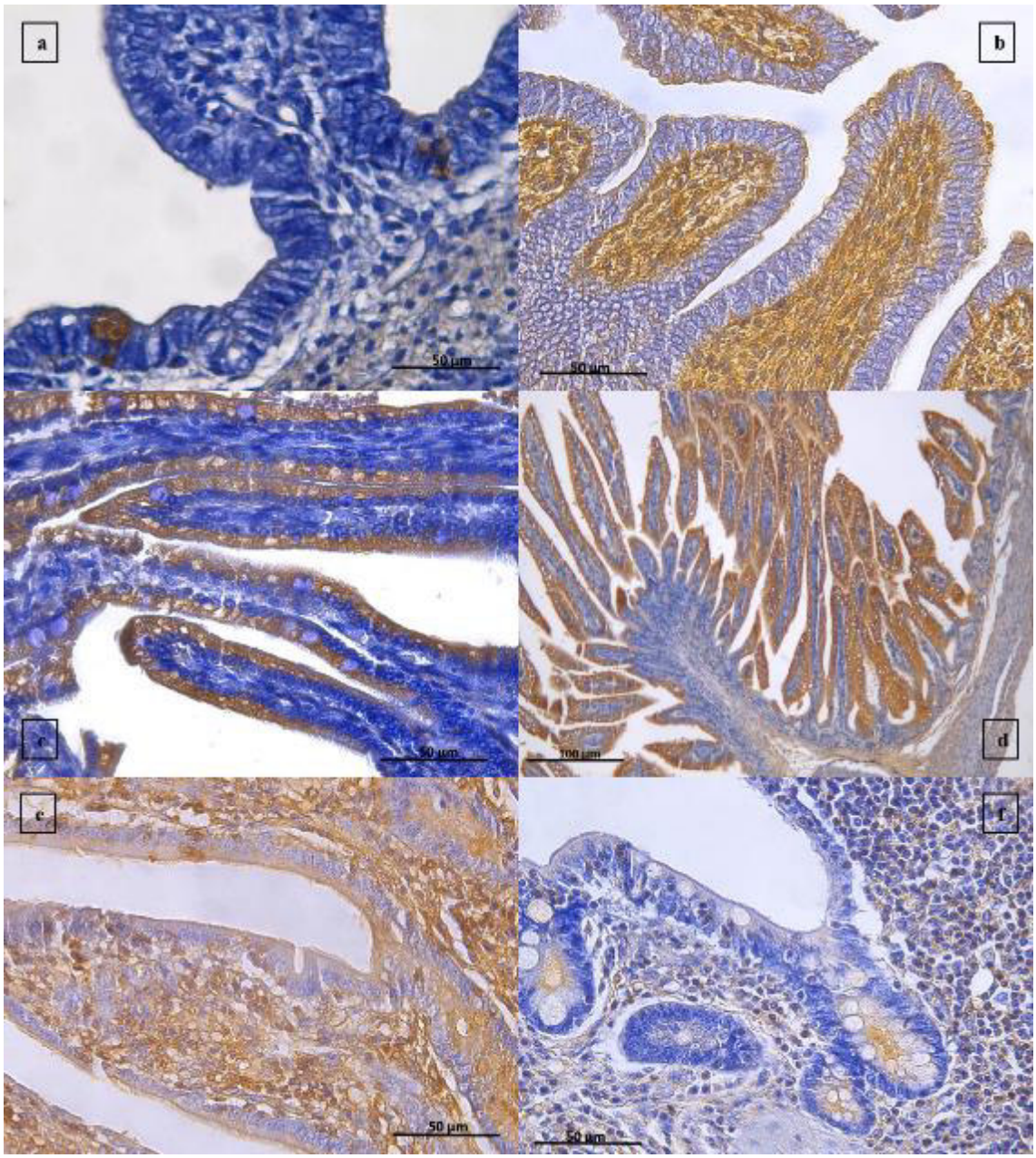


Figura 88: Marcación con lectina PSA en el intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: a) duodeno, 80 días, 63x; b) yeyuno, 103 días, 40x; c) íleon, 330 días, 40x; d) yeyuno 334 días, 10x. Etapa postnatal: e) yeyuno, 45 días, 40x; f) íleon, adulto, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

En el intestino grueso, se observó marcación tanto en el glicocálix como en el citoplasma desde el primer tercio de gestación, pero esta marcación se limitó a algunas células de las evaginaciones, del epitelio superficial y las criptas. En las crías y los animales adultos en el ciego y en el colon ascendente y descendente, la marcación fue leve a moderada en el glicocálix y en el citoplasma de células del epitelio superficial y de las criptas. En el colon transverso, solo se observó marcación en algunas edades como en crías de 8 a 21 días, 28 a 45 días y adultos, esta marcación fue generalmente leve (Figura 89; Cuadro 75).

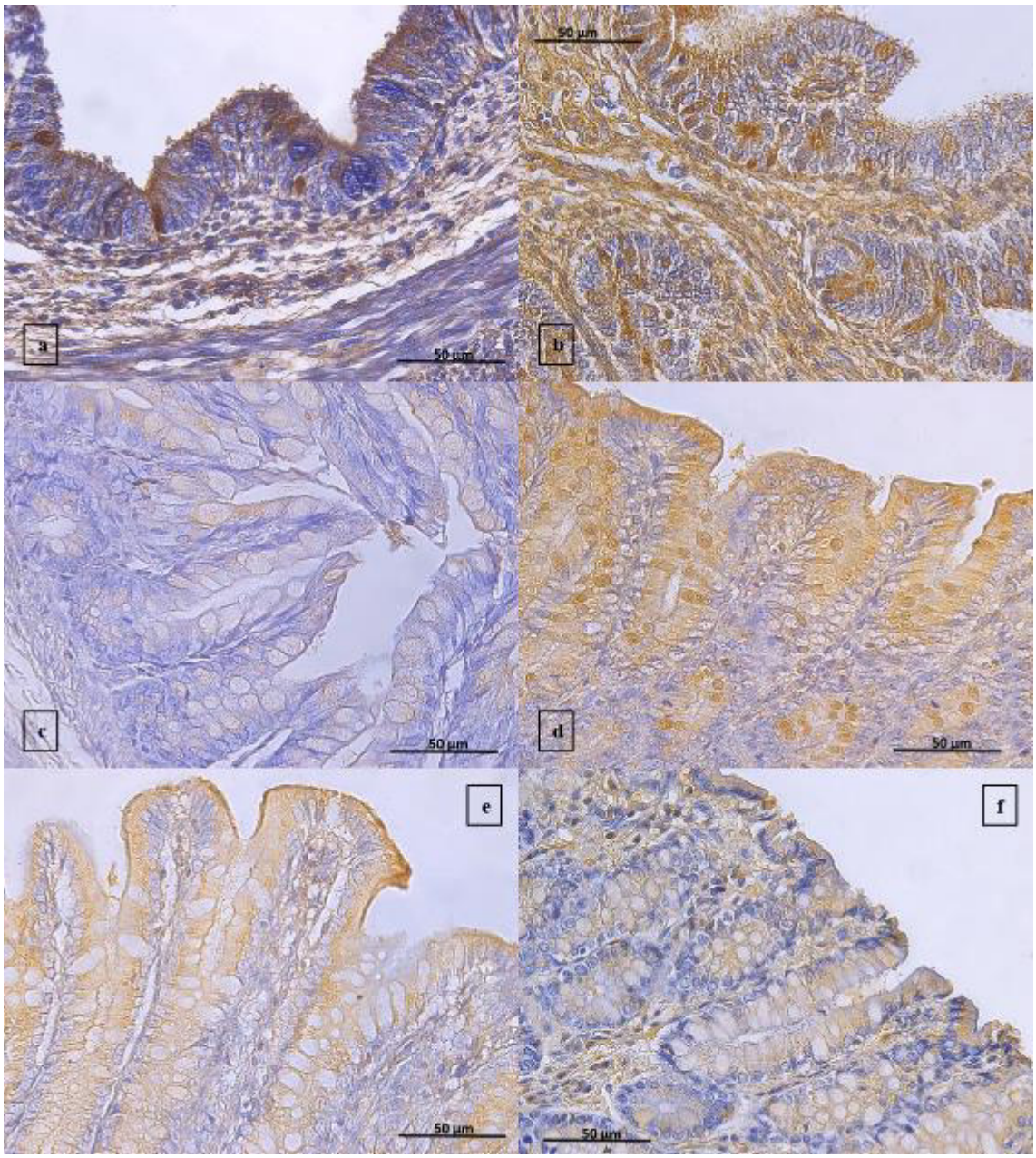


Figura 89: Marcación con lectina PSA en intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) ciego, 141 días; b) ciego, 216 días. Etapa postnatal: c) colon descendente, recién nacido, d) colon descendente, 27 días; e) colon ascendente, 45 días; f) colon descendente, adulto. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

Cuadro 74: Patrón de unión de la lectina PSA al intestino delgado de alpacas.

Porción Intestinal		Duodeno						Yeyuno				Íleon			
Etapa	Edad	Evaginación						Evaginación				Evaginación			
				G	C					G	C			G	C
Fetal	F1T			0	0					0-2	0			1-2	0-1
	F2Ta			0-2	0-2					2	0-2			0-3	2
		Vellosidad		Cripta		GB		Vellosidad		Cripta		Vellosidad		Cripta	
		G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C
	F2Tb	0	0	0	0	-	-	2	2	1-2	0	2-3	2	2	0
	F3T	0-2	0-2	0	0	0	0	2	2	0-2	0-1	2-3	2	1-2	0-1
Postnatal, días	RN	0-1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1
	1-7	0-1	0	0-1	0	1	1	0	0	0	0	0-2	0-1	0-1	0
	8-15	0	0	1-2	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	16-21	0	0	2	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0
	22-27	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0-1	0-1	0
	28-36	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0-1	0	0-2	0-1
	37-45	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0-2	1	0
	Adultos	1	1	2	1-2	0	0-1	1	1	2	2	0-1	0-1	0-1	0-2

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocálix, C: citoplasma, GB: glándulas de Brünner.
0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

Cuadro 75: Patrón de unión de la lectina PSA al intestino grueso de alpacas.

Porción Intestinal		Ciego				Colon Ascendente				Colon Transverso				Colon Descendente			
Etapa	**Edad**	**Evaginación**				**Evaginación**				**Evaginación**				**Evaginación**			
		G		**C**		**G**		**C**		**G**		**C**		**G**		**C**	
Fetal	F1T	0-2		0-1		0		0		2-3		1		0-2		0-2	
	F2Ta	1-2		0-1		0-2		1-2		0-2		0-1		1-2		0-2	
		Epitelio Superficial		**Cripta**		**Epitelio Superficial**		**Cripta**		**Epitelio Superficial**		**Cripta**		**Epitelio Superficial**		**Cripta**	
		G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C
	F2Tb	2	0-2	1-2	0	1-2	0	1-2	0-1	0-2	0	0-2	0	1	0	0	0
	F3T	2	0-1	1-2	0-1	0-2	0	0-2	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Postnatal, días	RN	2	1	2	1	0	0	2	0	0	0	1	1	0	2[1]	0	0
	1-7	0-1	0	1	0	0-2	0-2	0-2	0-1	0	0	1	1	0-2	0-1	1	1
	8-15	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	2-3	1	1	1
	16-21	0	0-1	1	0-1	0	2	2	1	0	1	0	1	1-2	1	1	1
	22-27	2	1	1	1	0-2	1	0	1	0	0	0	1	3	2	1	1
	28-36	3	2	2	1	0-2	1	1	1	0	1	0	1	0-1	0-1	1	1
	37-45	1	1	1	0-1	0-2	1	1	1	0	1	0	1	2-3	2	1-2	1-2
	Adultos	1	1	1	1-2	1-2	1-2	1	1	0-2	1	0-1	0-1	1-2	1-2	0-1	0-1

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocálix, C: citoplasma.
0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

6.3.2.13 Lectina PHA-L: En el duodeno se observó marcación desde el momento de la ontogenia en que aparecen las vellosidades y las criptas, la marcación fue principalmente en glicocálix de las vellosidades y de las criptas. No se observó marcación en las glándulas de Brünner. En yeyuno, se observó marcación del glicocálix de las criptas desde el segundo tercio de gestación y en vellosidades a partir del nacimiento. El citoplasma mostró marcación en las crías de 1 a 7 días y de 28 a 36 días, siendo esta solo en algunas células. En el íleon, la positividad de las criptas comenzó en el último tercio de gestación y la de las vellosidades desde el día 1 post nacimiento. En íleon la marcación fue fuerte en el glicocálix de las vellosidades, moderada en el glicocálix de las criptas y leve, principalmente, en los citoplasmas (Figura 90, Cuadro 76).

En el intestino grueso se observó marcación en algunas edades y por zonas. En el ciego se marcaron algunas células del epitelio superficial y de las criptas al final de la etapa fetal; en las crías hubo marcación a partir de los 8 días de edad (Figura 91a, b). En el colon la marcación fue muy específica en algunas edades y se limitó a algunas células (Figura 91c, d; Cuadro 77).

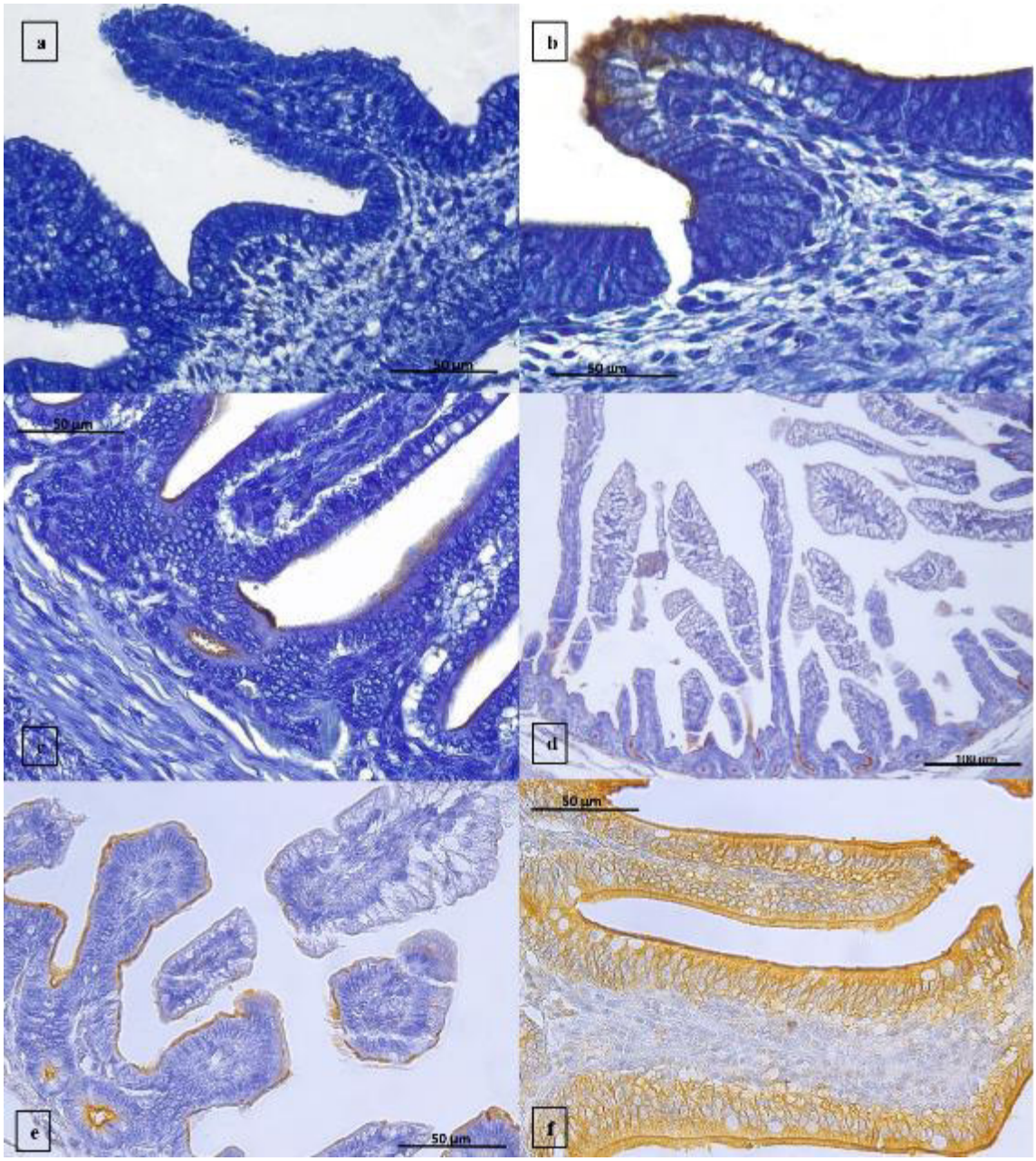


Figura 90: Marcación con lectina PHA-L en intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: a) duodeno, 80 días, 40x; b) yeyuno, 119 días; 63x, c) íleon, 317 días, 40x. Etapa postnatal: d) yeyuno, 1 día, 10x; e) yeyuno, 3 días, 40x; f) íleon, 43 días, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

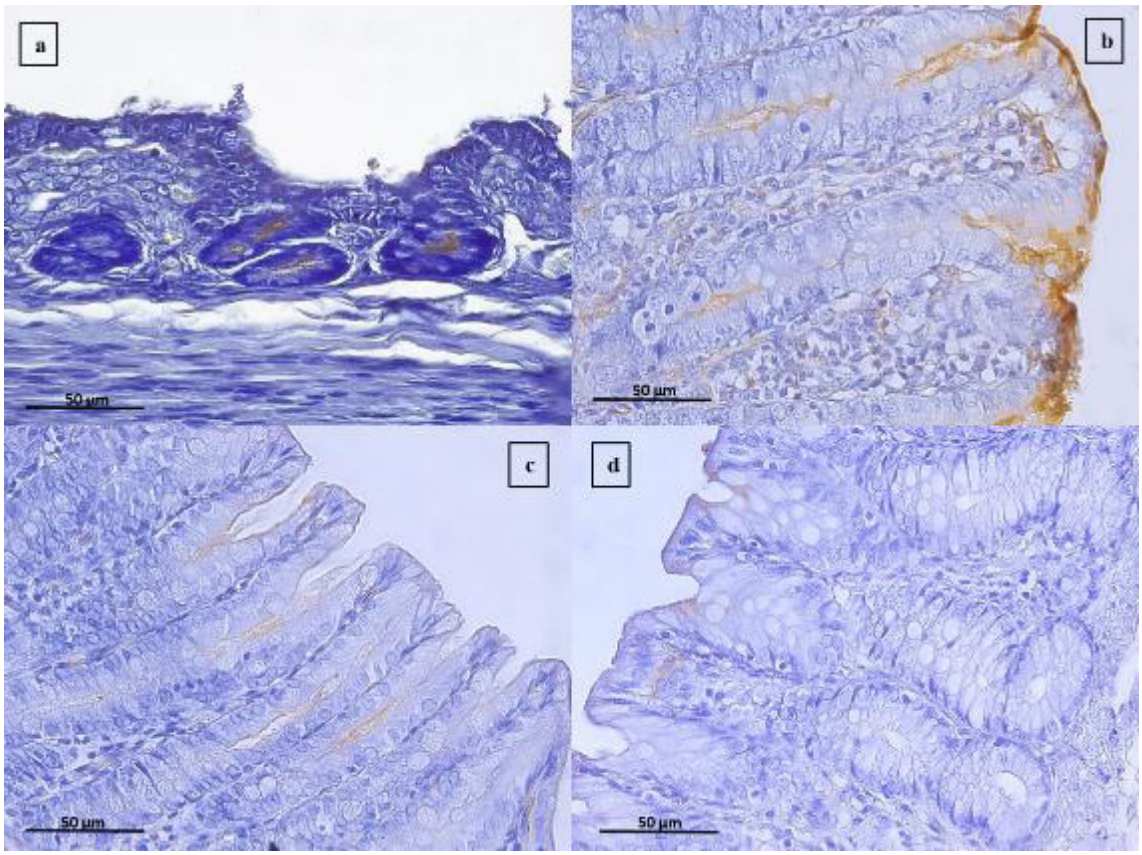


Figura 91: Marcación con lectina PHA-L en intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) ciego, 334 días. Etapa postnatal: b) ciego, 10 días; c) colon ascendente, 21 días; d) colon transverso, 31 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

Cuadro 76: Patrón de unión de la lectina PHA-L al intestino delgado de alpacas.

Porción Intestinal		Duodeno						Yeyuno				Íleon			
Etapa	Fetal	Evaginación						Evaginación				Evaginación			
				G	C					G	C			G	C
Fetal	F1T			0	0					0	0			0	0
	F2Ta			0-3	0					0	0			0	0
		Vellosidad		Cripta		GB		Vellosidad		Cripta		Vellosidad		Cripta	
		G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C
	F2Tb	0-3	0	1-2	0	-	-	0	0	0-2	0	0	0	0	0
	F3T	0-3	0	0	0	0	0	0	0	1-2	0	0	0	2-3	0
Postnatal, días	RN	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	2	1
	1-7	2-3	0	1	0	0	0	3	0-1	2	0-1	2	1	2	1
	8-15	2	0	1	0	0	0	3	0	2	0	1-3	0-1	1	0
	16-21	3	0	1	0	0	0	3	0	2	0	3	2	2	1
	22-27	3	0	1	0	0	0	3	0	2	0	3	0-1	2	1
	28-36	3	1	2	0	0	0	3	0-2	3	0-2	3	2	2	1
	37-45	3	1-2	2	0	0	0	3	0	2	0	3	2	2	1
	Adultos	3	1	2	0	0	0	3	0	2	0	3	2	2	1

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocálix, C: citoplasma, GB: glándulas de Brünner.
0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

Cuadro 77: Patrón de unión de la lectina PHA-L al intestino grueso de alpacas.

Porción Intestinal		Ciego				Colon Ascendente				Colon Transverso				Colon Descendente			
Etapa	Edad	Evaginación				Evaginación				Evaginación				Evaginación			
		G		C		G		C		G		C		G		C	
Fetal	F1T	0		0		0		0		0		0		0		0	
	F2Ta	0		0		0		0		0		0		0		0	
		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta	
		G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C
	F2Tb	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	F3T	0-3	0-1	0-3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Postnatal, días	RN	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
	1-7	0	0	0	0	0-2*	0-1	0-2*	0	0	0	0	0	0-2	0	1-2	0
	8-15	2-3	0-2	2	0	2	0	0-2*	0	0	0	0	0	1	1	1	1
	16-21	2-3	0-2	2	0	2*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
	22-27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	28-36	2	0	2	0	0-2*	0	0	0	0-1	0-1	0-1	0-1	0	0	0-2	0
	37-45	2	0	0-2	0	0	0	0	0	0-1	0-1	0-1	0-1	0-3	0	0-2	0-1
	Adultos	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

[1:] marcación granular

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocálix, C: citoplasma.

0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

6.3.2.14 Lectina PHA-E: En el intestino delgado se observó marcación positiva principalmente en el glicocálix de las evaginaciones, vellosidades y criptas, desde el primer tercio de gestación. Esta marcación en las vellosidades fue fuerte y en las criptas moderado. El citoplasma de las células se marcó principalmente en las criptas de duodeno, y las vellosidades y criptas de yeyuno e íleon, esta marcación fue leve o moderada. Las glándulas de Brünner, a partir del nacimiento tuvieron una marcación leve en el glicocálix y en el citoplasma (Figura 92; Cuadro 78).

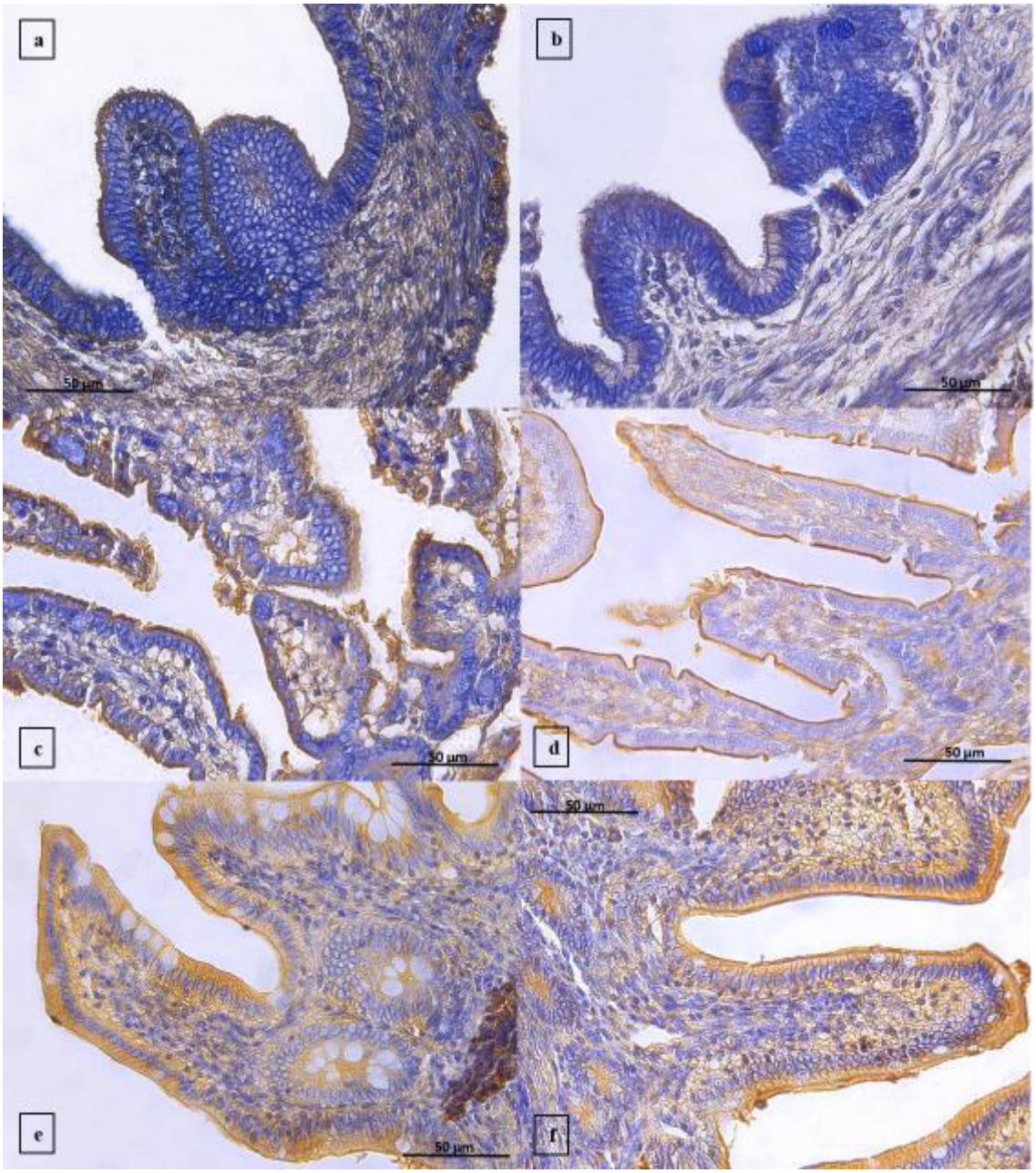


Figura 92: Marcación con lectina PHA-E en el intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: a) íleon, 80 días; b) duodeno, 141 días; c) duodeno, 325 días. Etapa postnatal: d) duodeno, recién nacido; e) yeyuno, 7 días; f) íleon, 42 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

En el intestino grueso se encontró marcación en el glicocálix de todas las porciones desde el primer tercio de gestación; tanto en las evaginaciones, como en el epitelio superficial y las criptas, siendo esta fuerte en el epitelio superficial y moderado en las criptas. La marcación del citoplasma se observó a partir del segundo tercio de gestación en el epitelio superficial y en criptas se observó a partir del nacimiento. La marcación del citoplasma fue moderada en el epitelio superficial y leve en las criptas (Figura 93; Cuadro 79).

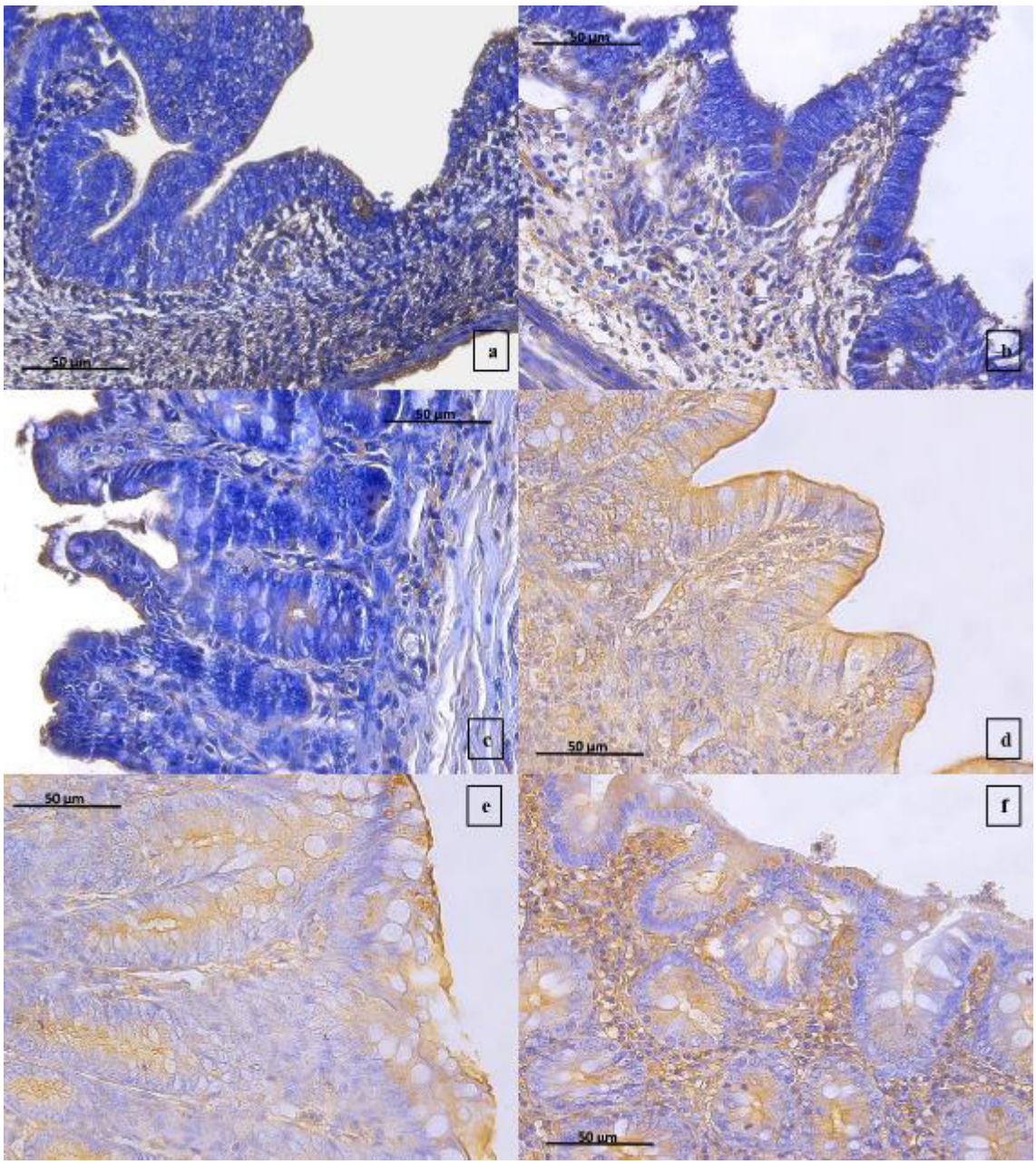


Figura 93: Marcación con lectina PHA-E en el intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) ciego, 334 días. Etapa postnatal: b) ciego, 10 días; c) colon ascendente, 21 días; d) colon transverso, 31 días. 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

Cuadro 78: Patrón de unión de la lectina PHA-E al intestino delgado de alpacas.

Porción Intestinal		Duodeno						Yeyuno						Íleon			
Etapa	Edad	Evaginación						Evaginación						Evaginación			
		G		C				G		C				G		C	
Fetal	F1T	2-3		0				2-3		0				2-3		0	
	F2Ta	2		0				2-3		0				2-3		0	
		Vellosidad		Cripta		GB		Vellosidad		Cripta				Vellosidad		Cripta	
		G	C	G	C	G	C	G	C	G	C			G	C	G	C
	F2Tb	2	1	2	1	-	-	2	0	0	0			2	0	1	0
	F3T	2	0	2	1	0	0	2-3	0	1-2	1			2-3	0-1	1-2	1
Postnatal, días	RN	3	0	2	1	2	1	2	0	1	0			2	0	2	0
	1-7	2-3	0-1	2	0-1	0-2	1	3	1	2	1			2	0	2	0
	8-15	2	0	2	0	1	1	3	1	2	1			2-3	0-1	2	0-1
	16-21	3	0	2	0-1	1	1	2-3	0-1	1-2	0-1			3	1	2	1
	22-27	3	0	1-2	0-1*	1	1	3	0	2	1			2	1	1	1
	28-36	3	0	1-2	1-2	1	1	2-3	0-1	1-2	0-1			3	2	2	1
	37-45	3	0-2	2	1	0-1	0-1	3	1	2	1			3	2	2	1-2
	Adultos	3	0	2	1	1	1	3	1	2	1			3	2	2	1

*: Marcación con patrón granular
F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocálix, C: citoplasma, GB: glándulas de Brünner.
0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

Cuadro 79: Patrón de unión de la lectina PHA-E al intestino grueso de alpacas.

Porción Intestinal		Ciego				Colon Ascendente				Colon Transverso				Colon Descendente			
Etapa	Edad	Evaginación				Evaginación				Evaginación				Evaginación			
		G		C		G		C		G		C		G		C	
Fetal	F1T	2-3		0		3		0		3		0		2		0	
	F2Ta	2		0		2-3		0		2-3		0		2-3		0	
		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta		Epitelio Superficial		Cripta	
		G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C	G	C
	F2Tb	2-3	1	0	0	1-3	0	1-2	0	2-3	0	1-2	0	2-3	1-2	0	0
	F3T	2-3	1-2	2-3	0	2-3	1	1-2	0	1-2	0	1-2	0	2-3	0	1-2	0
Postnatal, días	RN	3	1	2	1	3	1	2	1	3	1	2	1	2	0	2	1
	1-7	3	2	2	1	3	2	2	2	3	1-2	2	1	3	1	2	1
	8-15	3	2	1	1	3	2	2	1	2	1	2	1	2	0	2	0
	16-21	3	2	1	1	3	2	2	2	2	2	1	1	2-3	1-2	1-2	1
	22-27	3	2	2	2	3	2	2	2	2	1	1	1	2	1	2	1
	28-36	3	2	2	2	3	2	2	2	2-3	1	2	1	2-3	1-2	1-2	1
	37-45	3	1	2	1	3	2	2	1-2	3	1-2	2	1	3	1-2	2	1-2
	Adultos	3	2	2	1	3	2	2	2	3	2	2	1	3	1-2	2	1-2

F1T: fetos de primer tercio de gestación (46-110 días); F2Ta: fetos de segundo tercio de gestación (111-163 días); F2Tb: fetos de segundo tercio de gestación (164-229 días); F3T: fetos de tercer tercio de gestación (230-340 días), RN: recién nacido, G: glicocálix, C: citoplasma.
0: ausencia de marcación, 1: marcación leve, 2: marcación moderada, 3: marcación fuerte

VII. CAPÍTULO IV: DETERMINACIÓN DE PROCESOS DE PROLIFERACIÓN Y MUERTE CELULAR DEL EPITELIO INTESTINAL

7.1. OBJETIVO

Determinar los índices de proliferación y muerte celular (por apoptosis) en el epitelio intestinal de la alpaca desde la etapa fetal hasta la adulta.

7.2. METODOLOGÍA

Para la determinación de los procesos de proliferación y muerte celular del epitelio intestinal de la alpaca se usaron dos técnicas, inmunohistoquímica y la prueba de túnel.

7.2.1 Proliferación celular

La proliferación celular en el epitelio intestinal se determinó mediante inmunohistoquímica, para lo cual se identificaron las células que se encontraban en procesos de multiplicación celular mediante la marcación del antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA). Esta es una proteína que actúa como cofactor de la ADN polimerasa, permitiendo la síntesis de ADN en células eucarióticas; es sintetizada en la fase G1 de las células ciclantes y en la fase S del ciclo celular y se localiza a nivel nuclear (Castellano *et al.,* 1996).

Se utilizaron cortes de 5 µm de grosor, que fueron colocadas en láminas positivadas con Poly-L-Lysina (P 8920, Sigma-Aldrich, USA). El procesamiento se realizó según la técnica descrita en el Cuadro 10. Se utilizó el anticuerpo monoclonal de ratón (PC10) para el marcador de proliferación PCNA (ab29, Abcam, California, USA), el sistema de detección y amplificación fue el Kit mouse ABC staining system (sc-2018 Santa Cruz Biotechnology, USA) (Zanuzzi, 2010). Como control positivo se utilizaron cortes de intestino delgado de ratón y colon de rata; como control negativo se utilizaron cortes de intestino de alpaca donde se reemplazó el anticuerpo primario por BSA al 0.1%.

Las láminas obtenidas fueron leídas con un microscopio Leica DM 4B (Leica, Alemania) utilizado para los estudios morfológicos y morfométricos descritos en el capítulo I. Se realizó la identificación de células marcadas positivamente y se estableció un índice de marcación celular en criptas y vellosidades. En el intestino delgado se evaluó cripta y vellosidad; la vellosidad fue dividida en 3 zonas (apical, media y basal). En intestino grueso se evaluó epitelio superficial y cripta, esta última fue dividida en 3 zonas (apical, medio y basal). Se observaron 30 ejes cripta vellosidad por porción intestinal de cada animal en estudio, sacando la moda para cada división. Los índices de marcación establecidos fueron: 0: no hay células marcadas, 1: escasas células marcadas (1 a 5 células), 2: regular cantidad de células marcadas (6 a 10 células marcadas), 3: abundantes células marcadas (más de 10 células marcadas).

7.2.2 Muerte celular

La identificación de células en proceso de muerte celular se realizó mediante la identificación de células en apoptosis mediante la técnica de TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labelling), la cual permite la detección de fragmentos de ADN en células que se encuentran en proceso de muerte celular. Esta técnica consiste en la marcación de fragmentos de ADN mediante la incorporación catalítica de 16-dUTP marcado en los extremos libres, por la acción de la enzima transferasa deoxinucleotidil terminal (TdT) (Ansari *et al.*, 1993). Mediante esta técnica se detectan células que presentan roturas del ADN características de la apoptosis, incluyendo células con características bioquímicas de apoptosis y que aún no presentan características morfológicas de apoptosis) (Gavrieli *et al.*, 1992). En el estudio se utilizó el kit ApotTag® Plus Peroxidase In Situ (Millipore, USA) y se procedió según la técnica descrita en el Cuadro 80. El Kit incluyó como control positivo, cortes de glándula mamaria de roedor de 3 a 4 días post parto y como control negativo se utilizaron cortes de intestino de alpaca en las cuales se reemplazó la enzima TdT por PBS.

Las láminas preparadas fueron leídas con el microscopio Leica DM 4B (Leica, Alemania) utilizado en los estudios anteriores. Se realizó la identificación de células marcadas positivamente y se contó el número de células marcadas en el eje cripta vellosidad. El conteo se realizó en 30 ejes cripta vellosidad, por porción en todos los animales estudiados.

Cuadro 80: Procedimiento de la prueba de Tunel con el kit ApotTag® Plus Peroxidase In Situ para detección de apoptosis (Millipore, USA) en intestino de alpacas.

Proceso	Solución	Tiempo
Desparafinado	Xilol 1	5 min
	Xilol 2	5 min
	Xilol 3	5 min
	Etanol 1	5 min
	Etanol 2	5 min
	Etanol 96°	5 min
	Etanol 70°	5 min
	PBS	5 min
Pretratamiento de tejidos	Proteinasa K (20 µl/ml)	15 min a T° ambiente
	Agua desionizada 1	2 min
	Agua desionizada 2	2 min
Bloqueo de peroxidasa endógena	PBS con peróxido de Hidrógeno al 3%	5 min
	PBS 1	5 min
	PBS 2	5 min
	Buffer de equilibrio (75 µl/5 cm^2)	10 s a T° ambiente
	Enzima TdT de trabajo fuerte (55 µl/5 cm^2)	1 hora a 37°C en cámara húmeda
	Stop wash buffer	Agitar 15 s e incubar por 10 min a T° ambiente
	PBS 1	1 min
	PBS 2	1 min
	PBS 3	1 min
	Conjugado anti digoxigenina (65 µl/5 cm^2)	30 min a T° ambiente incubar en cámara húmeda
Lavados	PBS 1	2 min
	PBS 2	2 min
	PBS 3	2 min
	PBS 4	2 min
Coloración en sustrato peroxidasa	Sustrato peroxidasa (75 µl/5 cm^2)	3-6 min a T° ambiente
	Agua desionizada 1	1 min
	Agua desionizada 2	2 min
	Agua desionizada 3	1 min
	Verde de metilo 0.5%	10 min T° ambiente
	Agua desionizada 1	10 min
	Agua desionizada 2	10 min
	Agua desionizada 3	30 seg
	Butanol 1	Mover 5 s
	Butanol 2	Mover 5 s
	Butanol 3	30 s
Aclarado	Xilol 1	5 min
	Xilol 2	5 min
Montaje	Con Permount	

Proteinasa K (Millipore, catálogo 21627, USA).

7.3. RESULTADOS

7.3.1 Proliferación celular

Mediante la inmunomarcación, se observó en el intestino delgado, abundantes células en proliferación en el epitelio intestinal en las edades tempranas del primer tercio de gestación (Figura 94a). Hacia las edades más avanzadas del primer tercio de gestación y en el segundo tercio de gestación se observó un mayor número de células en proliferación ubicadas hacia la base de la evaginación, mientras que hacia la zona media y basal estas disminuyen hasta desaparecer en las zonas más apicales (Figura 94 b). A partir de los 230 días de gestación, edad en la cual se observó cripta y vellosidad diferenciadas, las células en proliferación se observaron en las criptas principalmente. Las células al migrar hacia las vellosidades continúan con el proceso proliferativo y siguen expresando PCNA, lo cual se evidenció con la presencia de células marcadas en la base de las vellosidades, desapareciendo hacia la zona apical.

El tercer tercio de gestación se caracterizó por ser un periodo de proliferación, corroborado por la presencia de células marcadas, que en el caso de duodeno se observaron hasta la zona basal de las vellosidades. En yeyuno; en cambio, se observaron algunas células marcadas en el zona media de la vellosidad y en el íleon las células en proliferación fueron observadas inclusive en la zona apical de la vellosidad (Figura 94c, d).

En la etapa postnatal, se observaron abundantes células en proliferación en criptas de las tres porciones intestinales, en todas las edades, con excepciones de algunas células que por sus características morfológicas parecieron ser células de Paneth y células caliciformes. En duodeno, se observaron células en proliferación en las vellosidades hasta los 21 días de edad, mientras que en yeyuno e íleon se observaron células en proliferación en la base de las vellosidades hasta la edad adulta (Figura 94e, f, g, h; Cuadro 81).

Al igual que en el intestino delgado, en el intestino grueso, se observó abundantes células en proliferación en todo el epitelio durante el primer tercio de gestación. Cuando aparecen las evaginaciones, estas presentan abundantes células proliferantes hacia la base de las evaginaciones y conforme las células se van diferenciando y migrando hacia la punta de la evaginación estas presentan menos marcación (Figura 95a). En el segundo tercio de gestación, cuando aparecen las invaginaciones y se diferencian las criptas, se observó que estas presentan abundantes células en proliferación: en cambio la punta de evaginación o vellosidad al final del segundo tercio, se observan en menor cantidad (Figura 95b).

En las criptas el ciego, se observaron a partir del final del segundo tercio de gestación y hasta 45 días post nacimiento, abundantes células en proliferación en la zona basal y media. En

los animales adultos se observaron abundantes células en proliferación en la zona basal y una cantidad escasa en la zona media de la cripta. En el colon ascendente, se observaron abundantes células en proliferación en la zona basal y media de la cripta desde el segundo tercio de la gestación hasta los 36 días de edad. Luego la cantidad disminuyó en la zona media, en donde entre los 37 a 45 días se observó regular cantidad de células en proliferación; en adultos se encontraron escasas células marcadas con PCNA (Figura 95d, e).

En colon transverso, se observaron abundantes células en proliferación en las criptas desde el segundo tercio de gestación hasta la edad adulta; mientras que en la zona media de las criptas se observó abundantes células en proliferación hasta los 21 días post nacimiento. Luego se encontró una regular cantidad de células hasta los 27 días y escasa cantidad entre los 37 a 45 días. En el colon descendente, se observaron abundantes células PCNA+ en la zona basal de la cripta en todas las edades, y en la zona media durante la etapa fetal (Figura 95c) y entre los 16 a 21 días post nacimiento. Desde el nacimiento y hasta los15 días de edad, se localizaron escasas células en proliferación en la zona media de la cripta (Figura 95f). En todas las porciones del intestino grueso no se observaron células en proliferación en la zona apical de la cripta y en el epitelio superficial (Cuadro 82).

Cuadro 81: Grado de marcación con PCNA en los ejes cripta vellosidad de intestino delgado de alpacas.

Etapa	Edad	Duodeno				Yeyuno				Íleon			
		Evaginación				Evaginación				Evaginación			
Fetal	F1T	3				3				3			
		Cripta	Vellosidad			Cripta	Vellosidad			Cripta	Vellosidad		
			B	M	A		B	M	A		B	M	A
	F2T	3	3	0	0	3	3	0	0	3	3	0	0
	F3T	3	3	0	0	3	3	1	0	3	3	3	2
Postnatal, días	0-7	3	2	0	0	3	1	0	0	3	0	0	0
	8-15	3	1	1	0	3	2	0	0	3	0	0	0
	16-21	3	1	0	0	3	2	0	0	3	2	0	0
	22-27	3	0	0	0	3	2	0	0	3	2	1	0
	28-36	3	0	0	0	3	1	0	0	3	1	0	0
	37-45	3	0	0	0	3	2	0	0	3	1	0	0
	Adultos	3	0	0	0	3	1	0	0	3	1	0	0

B: zona basal; M: zona media; A: zona apical; ES: epitelio superficial
0: no hay células marcadas con PCNA; 1: escasas células marcadas con PCNA (1 a 5 células); 2: regular cantidad de células marcadas con PCNA (6 a 10 células); 3: abundantes células marcadas con PCNA (más de 10 células).

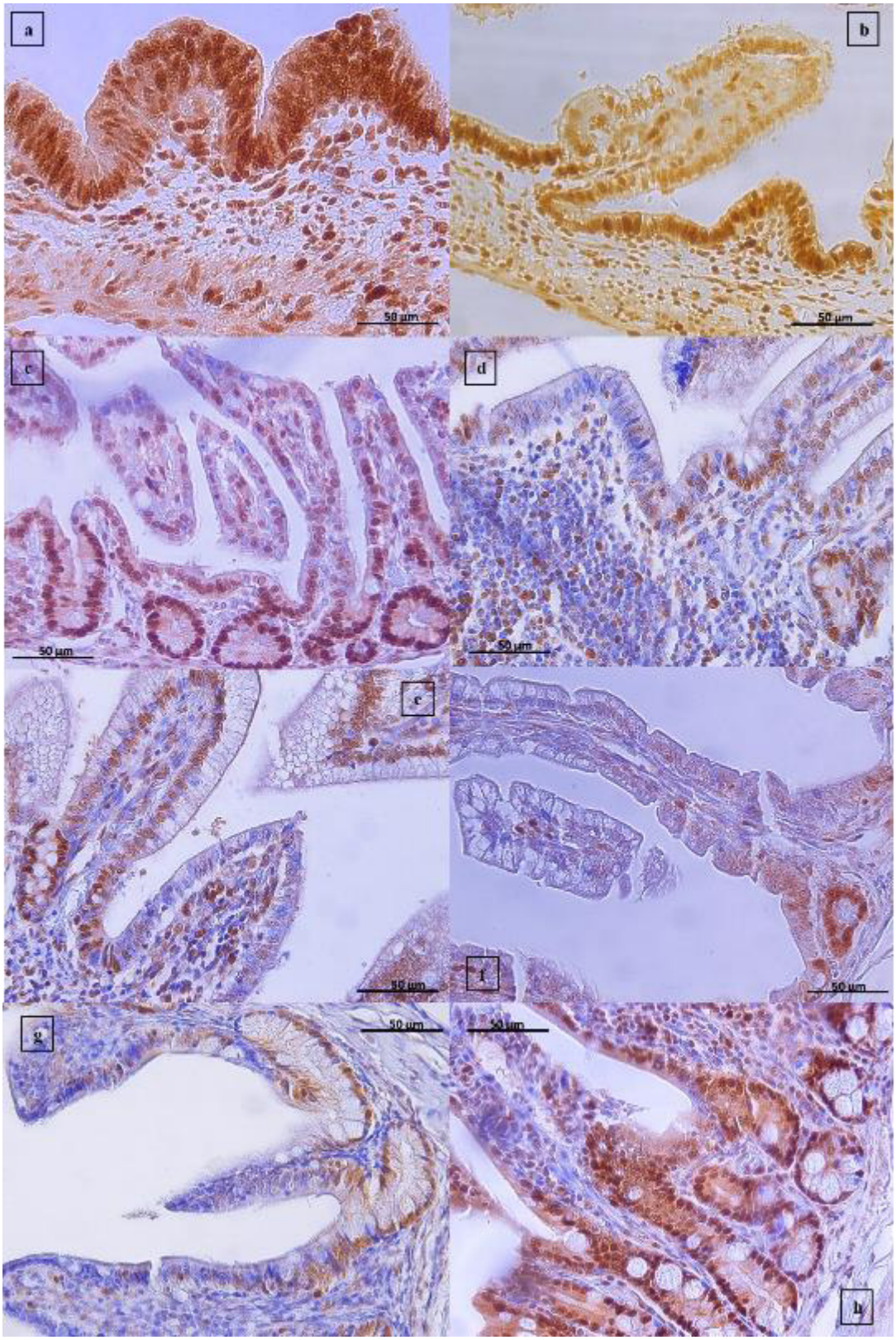


Figura 94: Identificación de células en proliferación celular mediante inmunomarcación para PCNA en el epitelio del intestino delgado de alpacas. Etapa fetal: a) duodeno, 56 días, 63x; b) duodeno, 80 días, 40x; c) yeyuno 330 días, 40x; d) íleon, 334 días, 40 días. Etapa postnatal: e) íleon, recién nacido, 40x; f) yeyuno, 2 días, 40x; g) íleon, 20 días, 40x; h) yeyuno, 45 días, 40x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

Cuadro 82: Grado de marcación con PCNA en las células del eje cripta vellosidad de intestino grueso de alpacas.

Etapa	Edad	Ciego				Colon Ascendente				Colon Transverso				Colon Descendente			
		Evaginación				Evaginación				Evaginación				Evaginación			
Fetal	F1T	3				3				3				3			
		Cripta			ES	Cripta			ES	Cripta			ES	Cripta			ES
		B	M	A		B	M	A		B	M	A		B	M	A	
	F2T	3	3	0	0	3	3	0	0	3	3	0	0	3	3	0	0
	F3T	3	3	0	0	3	3	0	0	3	3	0	0	3	3	0	0
Postnatal, días	0-7	3	3	0	0	3	3	0	0	3	3	1	0	3	1	0	0
	8-15	3	3	0	0	3	3	0	0	3	3	1	0	3	1	0	0
	16-21	3	3	0	0	3	3	0	0	3	3	0	0	3	3	0	0
	22-27	3	3	0	0	3	3	0	0	3	2	0	0	3	0	0	0
	28-36	3	3	0	0	3	3	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0
	37-45	3	3	0	0	3	2	1	0	3	1	0	0	3	0	0	0
	Adultos	3	1	0	0	3	1	1	0	3	0	0	0	3	0	0	0

B: zona basal; M: zona media; A: zona apical; ES: epitelio superficial

0: no hay células marcadas con PCNA; 1: escasas células marcadas con PCNA (1 a 5 células); 2: regular cantidad de células marcadas con PCNA (6 a 10 células); 3: abundantes células marcadas con PCNA (más de 10 células).

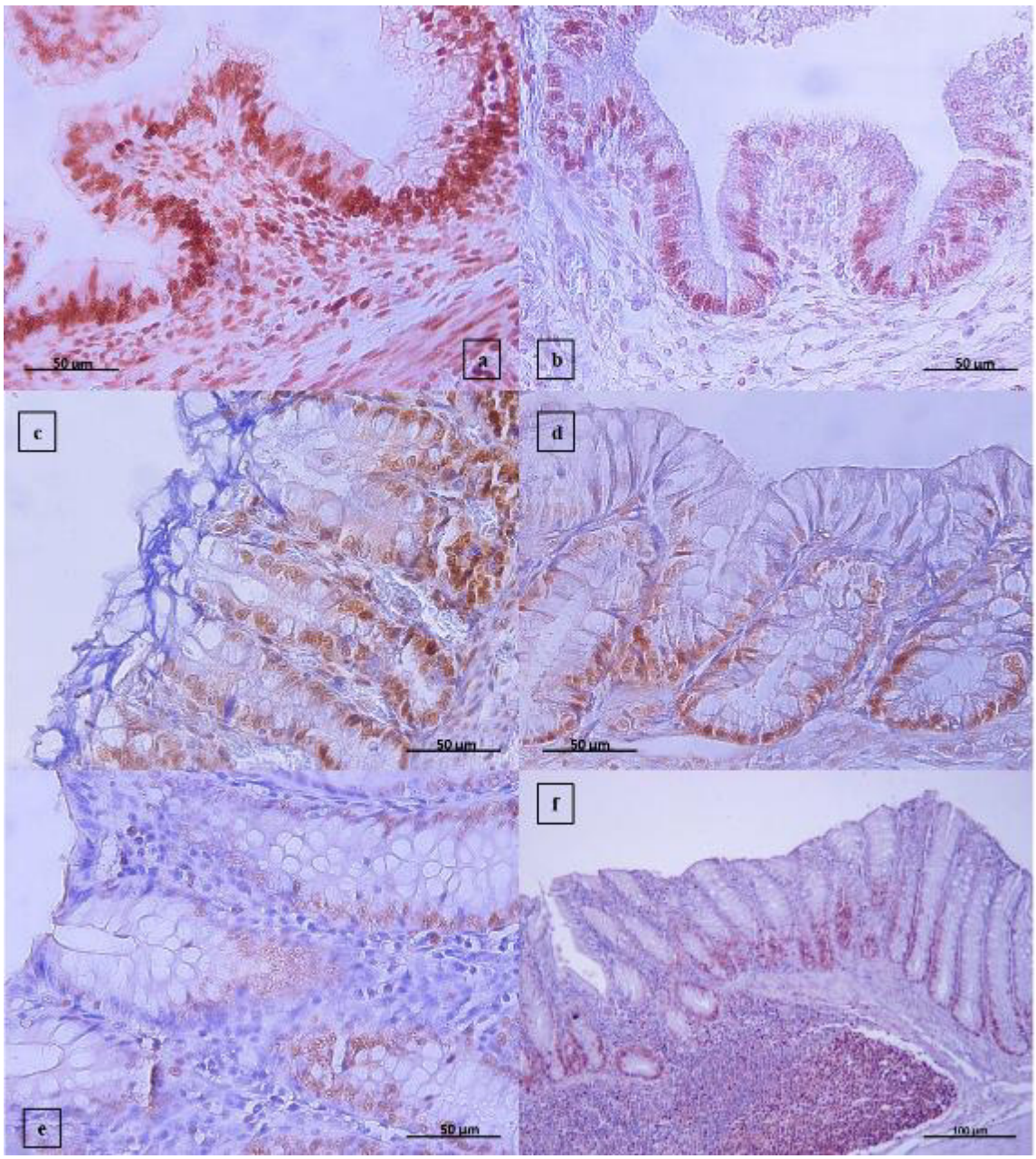


Figura 95: Identificación de células en proliferación celular mediante inmunomarcación para PCNA en el epitelio del intestino grueso de alpacas. Etapa fetal: a) colon descendente, 80 días, 40x; b) ciego, 216 días, 40x; c) colon descendente, 325 días, 40x. Etapa postnatal: d) colon ascendente, 4 días, 40x; e) colon ascendente, 18 días, 40x; f) colon descendente, 41 días, 10x. Coloración de contraste: Hematoxilina de Harris.

7.3.2 Muerte Celular

En el intestino delgado, en el primer tercio de gestación no se observó células en apoptosis. A partir del segundo tercio de gestación se observaron células en apoptosis hacia la punta de la evaginación y luego hacia la punta de la vellosidad. En duodeno y yeyuno se encontró una mediana de 3 células en apoptosis, en el segundo y tercer tercio de gestación y en el íleon una media de 2 células por vellosidad con un rango de 0 a 7 células en duodeno, 0 a 8 en yeyuno y 0 a 5 en íleon (Figura 96b). En la etapa postnatal, entre los 0 a 7 días se observó el mayor número de células en apoptosis en duodeno y yeyuno, las cuales se ubicaron en la zona media y apical de la vellosidad; en duodeno además se observó un gran número de células en apoptosis en animales adultos (0 a 21 células) (Figura 96f). En íleon, el mayor número de células en apoptosis se observó en las crías de 28 a 36 días con una mediana de 11 y un rango de 2 a 21 células en apoptosis (Figura 96e; Cuadro 83)

Cuadro 83: Número de células apoptóticas en el eje cripta vellosidad del intestino delgado de alpacas.

Etapa	Edad	Duodeno				Yeyuno				Íleon			
		Med	Mo	M	Mx	Med	Mo	M	Mx	Med	Mo	M	Mx
Fetal	F1T	0.0	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0	0	0	0
	F2T	3.0	0	0	7	3.0	0	0	6	2.0	2	0	8
	F3T	3.0	2	0	7	3.0	3	0	8	2.0	2	0	5
Postnatal, días	0-7	5.0	3	0	28	3.0	3	0	26	3.0	0	0	18
	8-15	2.5	2	0	7	2.0	2	0	4	3.0	0	0	18
	16-21	2.5	2	0	5	2.0	2	0	13	2.0	0	0	23
	22-27	4.0	3	0	13	2.0	2	0	8	2.0	0	0	10
	28-36	2.0	2	0	7	1.0	0	0	6	11.0	7	2	21
	37-45	3.0	2	0	8	2.0	0	0	7	4.0	2	0	15
	Adultos	9.0	7	0	21	4.0	4	0	8	5.0	5	3	8

Med: Mediana; Mo: Moda; M: valor mínimo; Mx: valor máximo.

En el intestino grueso se observaron células en apoptosis desde el primer tercio de gestación. En el colon descendente se detectó el mayor número de células; sin embargo, la moda fue de 0 en las tres porciones (Figura 96a). A partir de la diferenciación de las criptas, las células en apoptosis se observaron en las vellosidades. En el segundo tercio de gestación, se observó el mayor número de células en apoptosis en el ciego y en el colon ascendente, con rangos de 0 a 9 células en el ciego, y de 0 a 11 células en el colon ascendente (Figura 96c; Cuadro 84).

En la etapa postnatal, las células en apoptosis se observaron en el epitelio superficial. En el ciego se observó el mayor número de células en apoptosis en animales entre 0 a 7 días de, así como en crías de 28 a 36 días. En colon ascendente, el mayor número de células en apoptosis se

observó en las crías de entre 37 y 45 días (Figura 96h). El colon transverso presentó el menor número de células en apoptosis, con medianas de entre 2 y 4. En el colon descendente el menor número de células en apoptosis se observó en las crías desde el nacimiento hasta los 7 días (mediana 1.0) y el mayor número, en las crías de entre 16 a 27 días de edad (Cuadro 84).

Cuadro 84: Número de células apoptóticas en las criptas del intestino grueso de alpacas.

Etapa	Edad	Ciego				Colon Ascendente				Colon Transverso				Colon Descendente			
		Med	Mo	M	Mx	Med	Mo	M	Mx	Med	Mo	M	Mx	Med	Mo	M	Mx
Fetal	F1T	0.0	0	0	0	3.0	0	0	5	0.0	0	0	0	3.0	0	0	7
	F2T	3.0	4	0	9	3.0	3	0	11	2.0	0	0	6	2.0	0	0	6
	F3T	5.0	0	0	15	9.0	12	0	16	2.0	0	0	16	4.0	0	0	9
Postnatal	0-7	9.0	3	0	23	3.0	0	0	12	2.0	0	0	16	1.0	0	0	5
	8-15	3.0	0	0	9	4.0	3	0	25	2.0	0	0	5	3.0	3	0	5
	16-21	4.0	3	0	15	3.0	0	0	18	3.0	0	0	8	5.0	5	1	9
	22-27	4.5	2	1	11	2.0	0	0	5	2.0	0	0	5	5.0	4	3	9
	28-36	6.0	5	0	13	3.0	0	0	6	4.0	3	0	8	3.0	3	0	8
	37-45	3.0	3	0	12	5.0	6	0	10	4.0	4	0	10	3.0	2	0	10
	Adultos	4.0	3	0	6	4.0	4	1	9	3.0	3	0	7	3.0	3	2	5

Med: Mediana; Mo: Moda; M: valor mínimo; Mx: valor máximo.

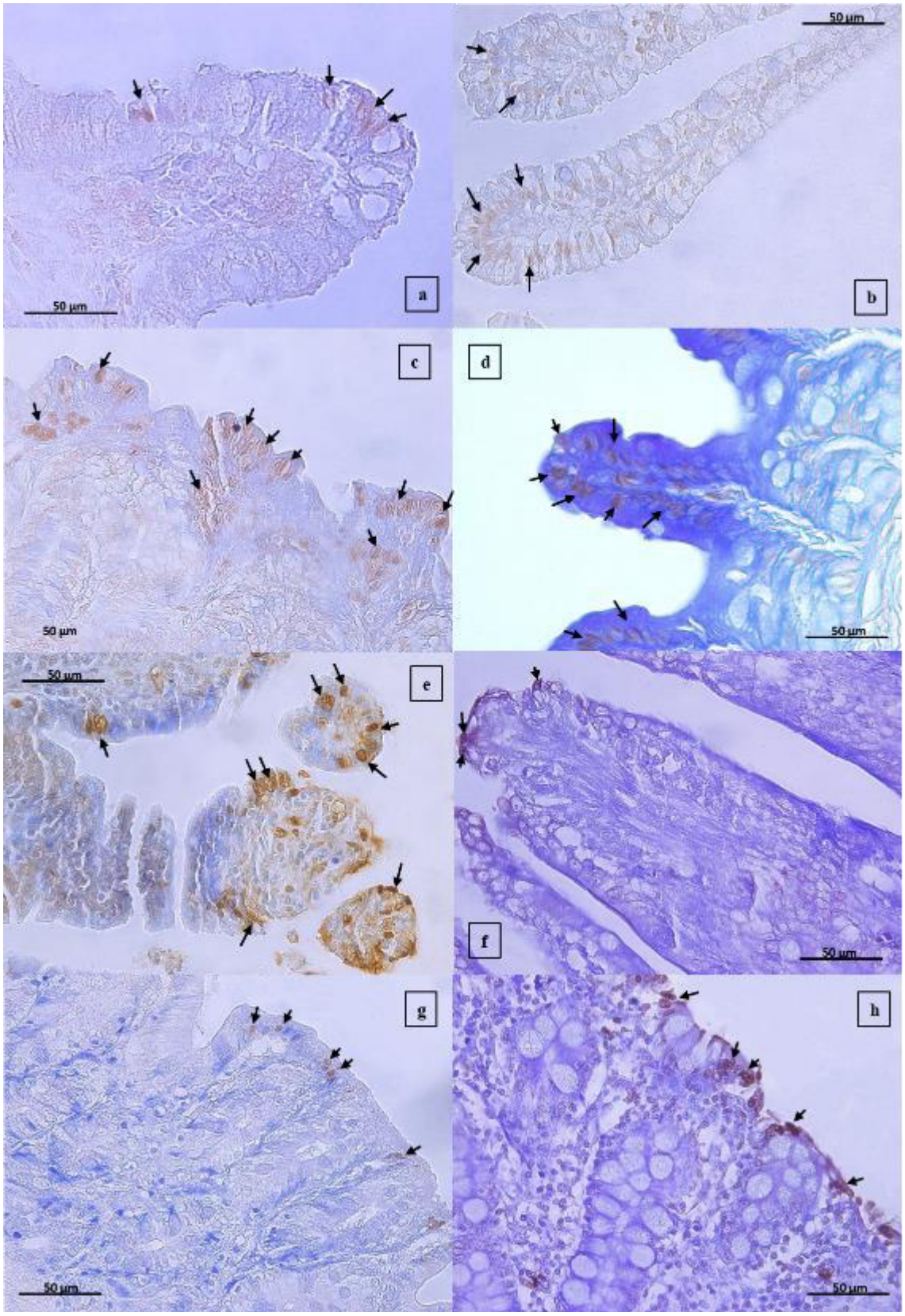


Figura 96: Identificación de apoptosis mediante la prueba de túnel (Método ApopTag) en el intestino de alpacas. Etapa fetal: a) colon descendente, 80 días, 63x; b) yeyuno, 334 días, 40x; c) colon ascendente, 334 días, 40x. Etapa postnatal: d) ciego, 1 día, 40x; e) íleon, 4 días, 40x; f) duodeno, 7 días, 40x; g) ciego, 43 días, 40x; h) colon ascendente, adulto, 40x.

VIII. DISCUSIÓN

8.1. DESARROLLO INTESTINAL

El desarrollo del tracto gastrointestinal (TGI) en la alpaca, en general y del epitelio intestinal en particular, son similares a lo descrito en otras especies de mamíferos. Inicia su desarrollo a muy temprana edad, siguiendo un patrón conservado, igual a lo que ocurre en otros mamíferos como los bovinos, ovinos y el cobayo (Klein y MacKenzie, 1983a, Weaber *et al.,* 1991; McLin *et al*., 2009).

En nuestro estudio se pudieron identificar a los 46 días de gestación, un intestino delgado dividido en duodeno y yeyuno y un intestino grueso pequeño sin divisiones, lo cual sería la transición del intestino primitivo a la formación de las diferentes porciones intestinales, similar a lo descrito en humanos por Grand *et al*. (1976) y en ratones por Lawson *et al*. (1986) y Franklin *et al*. (2008). En la alpaca, el proceso de formación de las porciones intestinales culmina a los 80 días de gestación, edad en la cual se observó el colon transverso, que es la última porción en desarrollarse. Posteriormente, ocurren procesos de elongación de cada porción con cambios morfológicos y morfométricos, lo cual es similar a otras especies como ratas (*Rattus norvegicus*), ratones (*Mus musculus*) y humanos (*Homo sapiens*) (Trier y Moxey, 1979; Hounnou *et al.,* 2002; Struijs *et al*., 2009; Helander y Frandriks, 2014), sin existir diferencias entre sexos (Marnerides *et al*., 2012). La elongación y el incremento del diámetro del intestino continúa hasta la etapa postnatal, en alpacas fue descrito previamente por Paredes (2010), quien demostró que, en los primeros días post nacimiento, ocurre un rápido incremento de la longitud del intestino, originado principalmente como consecuencia de la duplicación de la longitud del yeyuno.

Los cambios en la estructura de la pared intestinal que ocurren durante el desarrollo se asocian a procesos proliferativos en el epitelio y en el mesénquima. En alpacas, en fetos de entre 46 y 110 días de gestación, la formación de las distintas porciones intestinales se acompañó de

altos índices de proliferación celular en las diferentes túnicas que se están diferenciando en la pared intestinal, este proceso, también fue descrito en ratones entre los días 9 a 13 de gestación por Lepoucelet *et al*. (2005) y Cervantes *et al*. (2009). En ratones, se estableció que este incremento en la proliferación esta regulado por la señalización de Wnt no canónico a través de la vía de polaridad celular planar (Qian *et al.,* 2007; Cervantes *et al*., 2009). Es probable que esta vía regulatoria este conservada en mamíferos, y sea importante también en la alpaca.

La pared intestinal de la alpaca desde la etapa fetal hasta la edad adulta está formada por cuatro túnicas: mucosa, submucosa, muscular y serosa, característica que fue descrita en alpacas adultas por Montalvo (1966) y en crías por Checcnes (2014), y sigue el patrón típico de los mamíferos (Banks, 1996; Eurell y Frappier, 2006; Ross, 2015). Estudios en diversas especies como ratones y ratas, evidenciaron que la pared intestinal inicia su formación en la etapa embrionaria a partir del endodermo, el cual es rodeado por la hoja visceral del mesodermo, dando origen a las diferentes túnicas y estructuras de la pared intestinal y las glándulas anexas del TGI (Winkler y Wille, 1998; Bates *et al*., 2006; Spence *et al*., 2011; Le Guen *et al*., 2015; Deglincerti *et al.*, 2016).

En alpacas, en la etapa fetal, se observó un desarrollo paulatino a los 46 días de gestación. Las túnicas poseen células indiferenciadas y no se han desarrollado las estructuras características del intestino como criptas, vellosidades y capas musculares. Como consecuencia de los procesos que van ocurriendo durante la ontogenia, en el tercer tercio de gestación ya existe un grado de diferenciación celular epitelial y de morfogénesis muy similar al encontrado en la vida posnatal. Esto es similar a lo observado en animales como el bovino (Asari *et al*., 1987), cerdo (Karlsson, 1972), coipu (*Myocastor coypus bonariensis*) (Tano de la Hoz *et al.,* 2016) y humanos (Roa y Meruano, 2012) y se diferencia de los ratones (*Mus musculus*) (Cervantes *et al*., 2009) y conejos (*Oryctolagus cuniculus*) donde el desarrollo del epitelio se completa en el periodo postnatal (Elnasharty *et al.*, 2013). Este desarrollo es progresivo en todas las especies estudiadas. En la alpaca, en el primer tercio de gestación se pudieron observar las dos capas que posee la túnica muscular con el plexo mientérico entre ellas, así como la formación de vasos sanguíneos en la submucosa y en la serosa. En el segundo tercio de gestación se encontró una mayor organización de estas estructuras, así como de la presencia de agregados linfoides en la submucosa.

La túnica intestinal que sufre más cambios durante el desarrollo es la mucosa. Esta túnica presenta tres capas: epitelio, lámina propia y muscular de la mucosa, tanto en alpacas adultas (Montalvo 1966) como en crías (Checcnes, 2014). La formación de las capas de la mucosa es un proceso que comienza en el primer tercio de gestación y llega hasta el tercer tercio de gestación, aproximadamente hasta los 293 días; edad en la cual se distingue claramente la muscular de la

mucosa, lámina propia y epitelio intestinal con ejes cripta vellosidad formados en todas las porciones intestinales, para luego continuar con procesos de organización y maduración de las estructuras propias de cada capa de la mucosa. Este desarrollo es similar a lo descrito por Asari *et al*. (1987) en bovinos, quienes demuestran que la estructuración de la mucosa se completa a inicios del tercer tercio de gestación.

El desarrollo del epitelio intestinal de los mamíferos se caracteriza por una fase temprana de morfogénesis y proliferación celular, una etapa intermedia de diferenciación celular y una etapa posterior de maduración fisiológica. Como resultado de estos procesos, el epitelio intestinal definitivo está formado por células altamente especializadas que realizan funciones digestivas, absortivas, secretoras, endocrinas e inmunológicas (Rings *et al.,* 1992; Pácha, 2000; Crosnier *et al*., 2006; Drozdowski *et al*., 2010; Chin *et al*., 2017). Este epitelio, en la alpaca a los 46 días de gestación es estratificado; en este momento no existen evaginaciones ni invaginaciones de la mucosa. Posteriormente la diferenciación celular del epitelio es simultánea al proceso de morfogénesis, hasta que a los 232 días ya están formadas las vellosidades y criptas revestidas por un tejido epitelial cilíndrico simple, este modelo de desarrollo es similar al descrito en humanos, pollos (Shyer *et al*., 2013), ratas (Trier y Moxey, 1979), bovino (Winkler y Wille, 1998) y cerdos (Dekaney *et al*., 1997).

La morfogénesis es un proceso conservado evolutivamente, que se encuentra en mamíferos, aves, reptiles, anfibios y peces (McAvoy y Dixon, 1978; Shyer *et al*., 2013). Es la responsable de la expansión masiva del área intestinal; se estima que en el humano adulto el área de superficie absorbente es de 30 m^2, con estructuras de vellosidades que amplifican el área de la superficie en 6,5 veces (Helander y Fändriks, 2014). La diferenciación y el crecimiento intestinal están regulados por enzimas y factores de crecimiento (Quaroni, 1985a, b) y siguen un patrón cráneo caudal (Asari *et al,* 1986). Este patrón también fue observado en el estudio, tanto en el intestino delgado como en el intestino grueso los cuales siguieron un patrón de desarrollo cráneo caudal.

Estudios realizados en ratas y ratones han demostrado que el epitelio intestinal se origina en el primer tercio de gestación a partir del endodermo, va como un epitelio seudoestratificado con células adheridas a la membrana basal (Grosse *et al*., 2011; Spence *et al*., 2011). Luego, mientras el intestino se expande en longitud y diámetro, el tejido epitelial se transforma en estratificado con células apicales firmemente unidas entre ellas mediante desmosomas (Dunn, 1967). Este es un periodo transitorio (Grosse *et al*., 2011), para luego volver a modificarse como un epitelio simple seudoestratificado que inicia el proceso de diferenciación y acompaña la formación de evaginaciones y vellosidades (Madara *et al*., 1981), para luego dar paso a un epitelio

cilíndrico simple donde las células están unidas entre ellas por uniones estrechas y hacia la lámina basal mediante hemidesmosomas (Orian-Rousseau *et al.,* 1996). En este estudio se incluyeron fetos a partir de los 46 días de gestación, en estos ejemplares se observó, mediante el uso de diferentes técnicas histológicas y de inmunohistoquímica, un epitelio estratificado altamente proliferativo. No se reconocieron en ese estadio las otras capas de la mucosa intestinal, así también, solamente se observó, superficialmente al epitelio, estar rodeado de un tejido con abundantes células mesenquimales en proceso de proliferación, similar a lo descrito por diversos autores en diferentes especies de mamíferos (Asari *et al*., 1987; Grosse *et al*., 2011; Lee y Norden, 2013; Tano de la Hoz *et al.,* 2016), durante un estadio similar de la ontogenia.

En los siguientes días del desarrollo, se observó una condensación de células mesenquimales subyacente al epitelio. Ambos tipos celulares se proyectaron hacia la luz central formando evaginaciones. El tejido epitelial pasó entonces a ser seudoestratificado, un desarrollo similar fue descrito en ratones por Spence *et al*. (2011); estos autores, además demostraron que el mesénquima produce señales tanto permisivas como instructivas para inducir y regular el desarrollo normal del epitelio intestinal. En el cerdo, Dekaney *et al*. (1997) y Karlsson (1972), describieron que el intestino delgado posee originalmente un epitelio estratificado y que su mucosa no presenta ni vellosidades ni criptas. Posteriormente, el epitelio se diferencia a cilíndrico simple, con cambios microscópicos y ultraestructurales que permiten reconocer su diferenciación. Este epitelio se observa tanto en las vellosidades como en las regiones intervellosas. Una secuencia similar de ontogenia de la mucosa intestinal fue descrita en conejos, ovinos, bovinos (Toofanian y Targowski, 1982; Winkler y Wille, 1998) y coipú (Tano de la Hoz *et al.,* 2016). Por lo tanto, el patrón observado en la alpaca que comienza con un epitelio estratificado pasa luego a un epitelio simple seudoestratificado y al final a un epitelio cilíndrico simple, en simultáneo con formación de vellosidades y criptas, parece ser común a todos los mamíferos.

Las evaginaciones comenzaron a formarse a partir de los 56 días de gestación en diferentes porciones intestinales. En este momento se encontraban recubiertas por un epitelio estratificado, el cual va cambiando a seudoestratificado y se ubica hacia la punta de las evaginaciones, conforme estas se hacen más pronunciadas. En las zonas intermedias entre una evaginación y otra, se mantiene un epitelio estratificado con zonas altamente proliferativas lo cual también fue descrito en ratones por Korinek *et al*. (1998) y Grosse *et al.* (2011). Este periodo con presencia de epitelio seudoestratificado permite el empaquetamiento eficiente de una gran cantidad de células con rápida división en un espacio relativamente restringido, facilitando la elongación y formación rápida de las diferentes porciones intestinales, así como la expansión de la superficie intestinal. Diversos autores han descrito que el epitelio seudoestratificado, hace

posible que los núcleos de las células se ubiquen en posiciones escalonadas, debido a su constante movimiento hacia apical y hacia basal, proceso que es conocido como migración nuclear intercinética. Esto ocurre de acuerdo con el ciclo celular, en la fase S los núcleos están cerca de la lámina basal mientras que en la mitosis están más cerca de la superficie apical (Grosse *et al.,* 2011; Walton y Kolterud*,* 2014; Freddo *et al*., 2016; Norden, 2017).

Conforme el intestino se va elongando, se produce una disminución de la proliferación de la células epiteliales, intercalándose células proliferativas y no proliferativas, las no proliferativas se van desplazando hacia la punta de las evaginaciones (Cervantes *et al.,* 2009, Grosse *et al*., 2011). En la alpaca, este proceso se comenzó a observar hacia los 104 días de gestación, en este momento las células negativas a la marcación con PCNA se ubicaron hacia la punta de las evaginaciones, mientras que las células positivas a PCNA se localizaron hacia la base de la evaginación y los dominios intervellosos, este proceso siguió un eje craneo caudal en cada porción intestinal.

En la alpaca, a partir de los 80 días de gestación se observó un mayor número de evaginaciones y además estas poseían un mayor tamaño. Durante el segundo tercio de gestación, las evaginaciones de la mucosa forman las típicas vellosidades, lo cual amplió el área intestinal. Simultáneamente, se originaron las invaginaciones que dieron origen a las criptas. Esto ha sido descrito en fetos de ratas (Hilton, 1902; Dun, 1967; Mathan *et al.,* 1976), ratones (Sbarbati, 1982; Walton *et al.,* 2012), ovejas (Trahair y Robinson, 1986) y humanos (Lacroix *et al*., 1984a; Matsumoto *et al*., 2002), donde diversos autores demostraron que de la mucosa recubierta de un epitelio estratificado altamente proliferativo, se originan evaginaciones que dan origen a las vellosidades las cuales están recubiertas de un epitelio cilíndrico simple, quedando las células en proliferación en las zonas intervellosas.

Asari *et al*. (1986) y Asari *et al*. (1987) han demostrado que la mucosa sufre este proceso de morfogénesis entre el primer y segundo tercio de la gestación en bovinos. Estos autores comprobaron que la formación de las evaginaciones se da alrededor del final del primer tercio de gestación (3 meses), para luego dar lugar a la formación de vellosidades maduras y criptas en el segundo tercio de gestación, entre los 4 a 5 meses, siguiendo un patrón similar en el intestino delgado y el intestino grueso. En fetos de coipú, Tano de la Hoz *et al*. (2016), demostraron la presencia de vellosidades y criptas bien desarrolladas en el segundo tercio de gestación. En humanos la formación de las vellosidades y criptas inician alrededor de la semana 7 a la semana 10 de gestación, lo cual indica una formación muy temprana de las vellosidades (Grand *et al.,* 1976; Montgomery *et al*., 1999). En cambio, en el conejo y en los ratones, que son animales altriciales a diferencia de la alpaca, los bovinos, el humano y el coipú, la maduración histológica

del epitelio intestinal se da después del nacimiento y se completa después del destete (Toofanian y Targowski, 1982; Calvert y Pothier, 1990).

Alrededor del final del segundo tercio de gestación e inicio del tercer tercio de gestación, las vellosidades de la alpaca se encontraron recubiertas por un epitelio cilíndrico simple, con presencia de chapa estriada y diferentes tipos celulares, así también se observaron criptas estructuradas revestidas de epitelio cilíndrico simple con presencia de células en proliferación, células de Paneth (CP) y células caliciformes (CCAL). Esta formación de vellosidades y criptas se dan tanto en el intestino delgado como en el intestino grueso, lo cual concuerda con lo encontrado por Asari *et al*. (1986) en bovinos y Tano de la Hoz *et al.* (2016) en coipú, que también son mamíferos precociales.

En alpacas, el desarrollo de la mucosa del intestino grueso es similar a la descripta para el intestino delgado. Sigue un patrón cráneo caudal en cada porción; sin embargo, en el primer tercio de gestación, la formación de las porciones intestinales del intestino grueso presenta un patrón de formación diferente, pasa de ser una sola porción corta a presentar un ciego que se proyecta como un apéndice entre el íleon y colon y el colon propiamente dicho tiene un desarrollo en 2 ejes, uno cráneo caudal (colon ascendente-colon transverso) y otro caudo craneal (colon descendente-colon transverso), siendo el colon transverso el último en desarrollarse y diferenciarse macroscópicamente y microscópicamente. Este patrón caudo craneal también fue descrito por Asari *et al*. (1986), en bovinos, donde se encontró que la formación de vellosidades rudimentarias se da primero en recto y posteriormente en colon.

En el ciego y en el colon de fetos de alpacas se forman vellosidades a partir del segundo tercio de gestación, estas se mantienen hasta después del nacimiento y desaparecen en su totalidad entre los 3 a 7 días de edad. Estas vellosidades formadas en la etapa fetal inician su remisión al final del tercer de gestación, edad en la cual se observó gran cantidad de células apoptóticas, este resultado difiere de lo reportado por Asari *et al*. (1986) quienes describen que las vellosidades se forman en el intestino grueso del bovino en el segundo tercio de gestación y desaparecen en su totalidad entre el octavo a noveno mes de gestación.

Otras estructuras de la mucosa como la muscular de la mucosa y el músculo de Brücke iniciaron su proceso de diferenciación desde el inicio del segundo tercio de gestación a partir del mesodermo, completando su formación alrededor de los 293 días de gestación. En humanos, la formación de estas estructuras se inicia a finales del primer tercio de gestación (Grand *et al*., 1976; Lai *et al*., 2014)

Otra estructura importante del intestino delgado, especialmente del duodeno, son las glándulas de Brünner, las cuales cumplen una función importante en los mecanismos de regulación del pH intestinal y de la homeostasis del microambiente intestinal. Estas se ubicaron en la submucosa, desde los 293 días de gestación (tercer tercio de gestación), similar a lo observado en el coipú (Tano de la Hoz *et al.,* 2016) y humanos (Salva *et al.,* 2019), quienes también presentan glándulas de Brünner a partir del tercer tercio de gestación; y difiere del conejo donde recién se observan estas estructuras hacia los 20 días post nacimiento (Toofanian y Targowski, 1982).

En nuestro estudio, se observó que las glándulas de Brünner están formadas por células mucosas, igual a lo descrito por Montalvo (1966) en alpacas adultas y a diferencia del conejo (Zanuzzi *et al*., 2010) y la gacela (*Gazella subgutturosa*) (Hamza y Al-Mansor, 2017) en donde están formadas por células mucosas y serosas. En su citoplasma contienen mucinas, siendo la MUC 6 la principal mucina según lo reportado en humanos por Bartman *et al*. (1998), Buisine *et al.* (2000) y Tailford *et al*. (2015). Mediante PAS-AA se encontró en alpacas que el glicocalix presenta mucinas ácidas desde la etapa fetal, mientras que hasta los 21 días post nacimiento se observaron células que en su citoplasma poseen mucinas ácidas y otras que presentan mucinas neutras, a partir de esta edad se observó un predominio de mucinas ácidas, igual a lo reportado en bovinos adultos (Verdiglione *et al.,* 2002) y en conejos adultos (Zanuzzi *et al.,* 2010); mientras que en la gacela (Hamza y Al-Mansor, 2017) las glándulas de Brünner presentan mucinas neutras y no presentan mucinas ácidas.

Mediante LHQ, se determinó que el glicocalix y el contenido del citoplasma de las células de las glándulas de Brünner tienen una marcación fuerte con las lectinas RCA-1, DBA, SBA, WGA y UEA-1, identificándose la presencia de D-galactosa, αN-acetilgalactosamina, α>β N-acetilgalactosamina**,** N-acetilglucosamina, α L-fucosa desde la etapa fetal, lo cual es similar a lo encontrado en gatos, humanos y perros adultos por Skutelsky *et al.* (1989), bovinos por Verdiglione *et al*. (2002) y en conejos adultos por Zanuzzi *et al*. (2010). En conejos la lectina UEA-1 solo tiene afinidad para el citoplasma de las células serosas. En el mono Rhesus (*Macaco Rhesus*) existe una marcación fuerte de las células de las glándulas de Brünner con las lectinas WGA, SWGA y RCA-1 y una marcación leve con la lectina UEA-1 (Skutelsky *et al.,* 1989).

Una marcación entre leve a moderado fue observada con las lectinas GSL-1 y Con-A, indicándonos una menor presencia de α D-galactosa, α N-acetilgalactosamina y α manosa, αD glucosa desde la etapa fetal, similar a lo reportado en humanos adultos (Skutelsky *et al.,* 1989), mientras que con las lectinas SJA, PSA y PHA-E, se identificaron después del nacimiento β N-acetilgalactosamina, α manosa, αD glucosa y estructuras complejas de D-galactosa β4 N-

acetilglucosamina β2 manosa α6 (N-acetilglucosamina β4) (N-acetilglucosamina β4 manosa α3) manosa β4). En el caso de la lectina PNA, esta solo tuvo marcación en el citoplasma de las células de las glándulas de Brünner, lo cual indica presencia de D-Galactosa β3 N-acetilgalactosamina, lo cual también ha sido descrito en gatos, perros, mono Rhesus y humanos (Skutelsky *et al.,* 1989).

Luego de los procesos iniciales de morfogénesis y proliferación celular, ocurre la diferenciación celular, que lleva a que el epitelio con un único tipo celular observado en las primeras semanas de gestación origine los diferentes tipos celulares que conforman el epitelio intestinal maduro, células madre, enterocitos, CCAL, CP, CE y células sensoriales (Noah *et al.,* 2011; Spence *et al*., 2011).

La diferenciación celular es un proceso que comienza en el primer tercio de gestación en la alpaca, a los 80 días de gestación se pudieron observar células con citoplasma cromófobo de características similares a CCAL, y a los 103 días de gestación se observaron 3 tipos celulares, uno epitelial cilíndrico, que es negativo a la marcación con PCNA, otro tipo con citoplasma cromófobo y fenotipo de las CCAL y otro tipo celular con citoplasma cromófobo de tamaño pequeño y forma alargada, con núcleo central que en yeyuno y colon descendentes mediante IHQ se identificaron como células enteroendocrinas L; junto a estas células también se observó células altamente proliferativas que incluyen a las células madre. En el segundo tercio de gestación desde los 111 días se pudo reconocer claramente la presencia de poblaciones de CCAL, así como de células enteroendocrinas L, K, I y N distribuidas en las diferentes porciones intestinales, lo cual nos estaría indicando la importancia de estas células en la función intestinal desde estadios tempranos de la ontogenia, este proceso de diferenciación celular es similar al que ocurre en bovinos y cerdos (Asari *et al*., 1987; Dekaney *et al.,* 1997; Wille y Winkler, 1999).

Acompañando a estos procesos, que se mantienen hasta la edad adulta, se da un balance dinámico entre proliferación celular y la apoptosis de células viejas, estos procesos se hacen más intensos desde el momento que comienza la formación de las vellosidades (Duncan *et al*., 1994; Babeu *et al*., 2009). En la alpaca se observó desde el final del primer tercio de gestación la presencia de células en apoptosis, las cuales se ubicaron en la punta de la evaginación.

El periodo perinatal, es una etapa de renovación y maduración del epitelio intestinal de la alpaca, hacia el final del tercer tercio de gestación, se incrementa el número de células en apoptosis en las vellosidades del intestino delgado, comenzando el recambio de los enterocitos fetales presentes, por enterocitos maduros, proceso que dura hasta después del nacimiento. En el intestino grueso se observó gran cantidad de células apoptóticas principalmente hacia la punta de las vellosidades, lo cual produjo hacia el nacimiento y en los primeros días post nacimiento, la

eliminación completa de las vellosidades presentes en el intestino grueso. Estos eventos también han sido descritos en bovinos por Asari *et al*. (1986). Después de formadas los ejes cripta vellosidad en el tercer tercio de gestación, la renovación del epitelio intestinal es a partir de las células madre ubicadas en las criptas y después del nacimiento este proceso de recambio celular es continuo, con un recambio celular diario (Barbeito *et al.,* 2002; Gonzales *et al*., 2005; Gonzales y Barbeito, 2011), en ratones, ratas y humanos, el tiempo de vida de las células epiteliales en el intestino delgado es entre los 3 y los 5 días y en el intestino grueso entre los 2 y los 3 días (Barker, 2014; Darwich *et al*., 2014), mientras que las CP tienen un tiempo de vida entre 3 a 6 semanas (Ireland *et al.,* 2005).

En las crías de alpacas, después del nacimiento, en el intestino delgado, las células en proliferación se ubicaron en la zona apical de las criptas y la zona basal de la vellosidad, mientras que en el intestino grueso, estas se ubicaron en la zona basal y zona media de las criptas. En colon, se observó en crías de 8 y 21 días, células en proliferación en la zona apical de la cripta, esto indica un alto índice proliferativo en esas edades, mientras que en adultos solo se observó proliferación en la zona basal de la cripta, lo que nos indica que las criptas son las zonas de proliferación permanente en el animal en la etapa postnatal, como fue demostrado en ratones por Barbeito *et al*. (2002), Gonzales *et al.* (2005), Gonzales y Barbeito (2011) y Bohin *et al*. (2020). Estos mecanismos podrían ser de gran importancia en la alpaca, dada la gran cantidad de animales de esta especie que mueren a corta edad como consecuencia trastornos intestinales.

El desarrollo morfológico y morfométrico del epitelio intestinal, así como la expresión de transportadores de glucosa en la etapa fetal puede estar influenciado por factores nutricionales y metabólicos de la madre (Pinheiro *et al.,* 2013); mientras que en la etapa postnatal son diferentes los factores que influyen en la estructura de la mucosa intestinal, que incluyen el tipo de alimento, la microbiota (Sangild *et al*, 2000; Schmidt *et al*, 2004) y factores bioactivos como factores de crecimiento tales como el factor de crecimiento tipo insulínico, hormonas y colesterol que se encuentran en grandes cantidades en el calostro. Esto ha sido estudiado en bovinos, ovinos y cerdos donde ha sido descrito una alta tasa de proliferación de células epiteliales e incremento de transportadores en los enterocitos (Johansson *et al.,* 2008; Ontsouka *et al*., 2016).

En el presente estudio se encontró que el número de vellosidades y criptas disminuye en la etapa postnatal, pasando de 12 vellosidades y 13 criptas por mm de longitud de epitelio intestinal en el tercer tercio de gestación a 5 vellosidades y 5 criptas por mm de longitud de epitelio intestinal entre los 37 y 45 días de edad. Luego, en adultos se observa un aumento significativo en las tres porciones intestinales. La longitud de las vellosidades se mantiene casi constante en todas las porciones desde el nacimiento, mientras que las criptas se hacen más profundas. Estos

cambios podrían estar relacionados con diversas condiciones de manejo y alimentación de los animales, como ocurre en el cerdo, en donde Niinikoski *et al*. (2004) describen en yeyuno de lechones de 23 días de edad que la longitud de las vellosidades y criptas cambian cuando los animales se ven sometidos a una alimentación de tipo parenteral. En la misma especie, Oliveira *et al.* (2017), describieron que en duodeno y yeyuno la longitud de las vellosidades y criptas es mayor en comparación a íleon; mientras que Ciro-Galeano *et al*. (2016) encontraron en lechones entre 21 días a 51 días que la longitud y el diámetro de las vellosidades aumenta con la edad, de igual manera que el ancho de estas, además encontraron que existen diferencias entre el duodeno y el íleon, siendo mayor el tamaño de las vellosidades del duodeno. Estas diferencias de tamaño también fueron descritas en pollos de la línea Cobb vantres por Martínez *et al*. (2017).

Los cambios morfométricos de las vellosidades durante la etapa postnatal están relacionados con cambios en la dieta, por ejemplo, una dieta líquida en lechones produce atrofia de las vellosidades y disminución del número y de la profundidad de las criptas, por disminución del flujo sanguíneo intestinal, supresión de la síntesis de proteínas y supresión de los procesos de proliferación y supervivencia celular (Niinikoski *et al.,* 2004; Vrabcova *et al.,* 2016). Así mismo, los probióticos promueven la modulación positiva de los parámetros morfométricos y de la diferenciación epitelial intestinal por la selectividad positiva de bacterias benéficas y la reducción de metabolitos tóxicos en el lumen intestinal (García *et al*., 2014; Santana *et al.,* 2012; Han *et al*., 2007). En bovinos durante los primeros días de nacimiento una alimentación con calostro incrementa el tamaño de las vellosidades y los índices de la proliferación celular (Roffler *et al*., 2003).

Este incremento también se observó en las alpacas desde el nacimiento hasta los 3 días de edad, con índices de proliferación, recambio celular y presencia de transportadores mayores que los de las crías de más edad; esta observación permite hipotetizar que también en esta especie los factores presentes en el calostro son responsables de estos índices elevados de proliferación y son importantes para la homeostasis y la diferenciación epitelial, y que luego, cuando el animal pasa a tomar leche e ingerir pasto y paulatinamente incrementa el consumo de pasturas, los índices de proliferación y el tamaño de las vellosidades disminuye.

8.2. TIPOS CELULARES

En los diferentes mamíferos, el epitelio intestinal maduro está formado por células madre, enterocitos, CCAL, CP, CEE y células sensoriales (Ross *et al.,* 2015), su recambio celular varía entre 3 a 7 días según la especie (Barker, 2014). En el presente estudio se observó la presencia de

enterocitos, CCAL, CP, CEE y células en proliferación que incluirían a las células madre y a células indiferenciadas en tránsito.

8.2.1 Enterocitos

Los enterocitos son el tipo celular más abundante en el epitelio intestinal y su función es la absorción de nutrientes a través de transportadores que expresan en la membrana apical; es el linaje celular primario y su vía de diferenciación está controlada por la señalización Notch, lo cual fue estudiado en diferentes especies (Clevers, 2013). Dada la gran conservación de esta vía y la similitud de la ontogenia intestinal entre los mamíferos, es muy probable que en la alpaca también intervenga esta vía.

En la alpaca, desde muy temprana edad, 56 días en intestino delgado y 80 días en intestino grueso, se pudieron observar células epiteliales con forma cilíndrica y núcleo central de citoplasma eosinofílico, distribuidas en todo el epitelio. Conforme se formaron las evaginaciones y posteriormente las vellosidades, estas células se ubicaron hacia la zona apical, así mismo no mostraron actividad proliferativa, indicándonos que son células diferenciadas que por la forma y ubicación serían enterocitos. Así mismo, se observó en el intestino delgado, que estas células presentan chapa estriada a partir de los 124 días de gestación. La presencia de la chapa estriada desde muy temprana edad también ha sido descrita en humanos donde se ha determinado su presencia desde la semana 10 de gestación (Lacroix *et al.,* 1984a, b; Lacroix *et al*., 1986); sin embargo, en cerdos Sangild *et al*. (1995) describen la presencia de chapa estriada recién en el tercer tercio de gestación.

En alpacas, así como en otras especies, al final del tercer tercio de gestación se observaron enterocitos vacuolados fetales en el intestino delgado, ubicados principalmente hacia la punta de las vellosidades, estas células presentaron vacuolas que contienen glucógeno, presentando una estructura densa en la zona apical del citoplasma de la célula, que van desapareciendo en los primeros días de vida y luego solamente aparecen enterocitos con las características adultas. En el caso de bovinos Asari *et al.* (1987) encontraron enterocitos fetales en el último tercio de gestación. Posteriormente, ocurrió una remodelación completa del intestino antes del nacimiento, desapareciendo este tipo celular y dando paso a enterocitos tipo adulto.

Al final de la gestación y durante los primeros días post nacimiento existe un alto índice de proliferación celular en el eje cripta vellosidad, que está relacionado a este recambio celular, en el que los enterocitos fetales son reemplazados por enterocitos tipo adulto. Estos cambios también han sido descritos en el cerdo Buddington *et al*. (2001), quienes señalan que este recambio celular afecta la absorción de macromoléculas que ingresan por endocitosis, debido a

que el mayor porcentaje de enterocitos son inmaduros; sin embargo, el transporte más importante en esta etapa es el de monosacáridos porque que otorgan los requerimientos energéticos al neonato para su adaptación al nuevo medio ambiente. Estudios en bovinos, han demostrado que en el recien nacido, el ayuno así como la exposición a patógenos, causan una disminución en el crecimiento de las vellosidades intestinales, que hace al animal más susceptible a infecciones (Sauter *et al.,* 2004).

Para determinar si los enterocitos están completamente diferenciados y son maduros, se utilizan parámetros relacionados con la funcionalidad, uno de ellos es la presentación de sistemas enzimáticos en la membrana apical (Goda *et al*., 1999). Dentro de estos sistemas enzimáticos presentes en la membrana apical del enterocito tenemos al complejo enzimático sucrasa isomaltasa, que es detectada en enterocitos de humanos desde el primer tercio de gestación (Leeper y Henning, 1990), en ratas desde el segundo tercio de gestación según Quaroni, (1985a) y según Leeper y Henning, (1990), se expresan al momento del destete.

Otro de los parámetros a tomar en cuenta, es la presencia de transportadores de glucosa y proteínas en la membrana apical y basolateral de los enterocitos. La presentación de estos transportadores en los enterocitos varía con las especies; hay especies en las cuales aparecen desde la formación de las vellosidades, y en otras después del nacimiento o incluso después del destete (Drozdowski *et al*., 2010). El transporte de glucosa es el primero que se observa en el intestino fetal de diferentes especies incluido el ser humano (Rubin, 1992), y la alpaca, según lo determinado en este estudio. Uno de los factores que favorece la expresión de transportadores es la deglución del líquido amniótico por parte del feto como ha sido demostrado en humanos, conejos (Buchmiller *et al.,* 1992), ovinos (Trahair *et al.,* 1986) y monos Rhesus, en ellos entre 10 al 15% de los nutrientes adquiridos en la etapa fetal provienen de los nutrientes presentes en el líquido amniótico (Pitkin y Reynolds, 1975), así también se ve influenciado por el estado nutricional y las restricciones de nutrientes a las que pueda ser sometida la madre durante la etapa fetal (Pinheiro *et al.,* 2013; Liu *et al.*, 2016; Wang *et al.,* 2020), lo cual también puede afectar el patrón de transporte de glucosa en la edad adulta del animal, tal como ha sido descrito en ratones (Pinheiro *et al*., 2013)

Estudios en humanos (Buddington, 1994; Buddington y Malo, 1996) y en conejos (Cellini *et al*., 2005) han demostrado que las células cilíndricas identificadas en el primer tercio de gestación expresan transportadores SGLT-1 y poseen niveles elevados de su ARNm, lo cual sugiere que el transporte de glucosa se inicia desde el primer tercio de gestación. En alpacas se encontró que las células cilíndricas ubicadas hacia la punta de la evaginación hacia el final del primer tercio de gestación presentaron transportadores SGLT-1 en la membrana apical, de manera

similar a lo encontrado en humanos. En alpacas no existen estudios sobre la deglución del líquido amniótico, su contenido de nutrientes y si influye en la expresión de los transportadores de glucosa.

En cerdos, Buddington y Malo (1996), han descrito un incremento en la densidad de transportadores SGLT-1 en el tercer tercio de gestación. En humanos entre el segundo y tercer tercio de gestación se establece el gradiente de absorción de glucosa en duodeno e íleon. Este incremento de transportadores SGLT-1 ha sido observado en alpacas, evidenciándose un incremento marcado de transportadores entre el primer y tercer tercio de gestación. Después del nacimiento, esta marcación se observa en los enterocitos en la punta de las vellosidades en duodeno, mientras que en yeyuno se mantiene en toda la vellosidad. Yang *et al*. (2011) demostraron la presencia de transportadores SGLT-1 en todo el eje cripta vellosidad en yeyuno de cerdos lactantes y Klinger *et al*. (2018) demostraron la presencia de este transportador en ovejas en los primeros días de vida. Estos resultados difieren totalmente de los encontrados en animales altriciales como ratas, donde el incremento de transportadores SGLT-1 ocurre en el momento del destete (Shu *et al*., 1997; Khan *et al.,* 2000

Otro sistema de transporte de glucosa establecido en el epitelio intestinal es a través de los transportadores GLUT-2, que tienen una baja afinidad pero si una alta capacidad de transporte. Han sido descritos en humanos (Malo, 1988, Malo, 1990) y en ratas sometidas a altas concentraciones de glucosa en la luz intestinal (Kellet y Helliwell, 2000). En fetos de alpacas identificamos GLUT-2 desde el final del primer tercio de gestación en el intestino delgado tanto en la membrana apical como en la basolateral de los enterocitos ubicados hacia la zona apical de la evaginación, lo cual indica que desde muy temprana edad en la alpaca existe un proceso de maduración de los enterocitos y expresión de transportadores de glucosa. Este resultado es similar al hallado en ratas, especie en la que Matsumoto *et al*. (1993) identificaron GLUT-2 desde el segundo tercio de gestación, antes que las vellosidades se formen, incrementándose hasta el destete para luego disminuir hacia la edad adulta (Shu *et al*., 1997, Drozdowski *et al.,* 2010). En bovinos Steinhoff-Wagner *et al.* (2015) han descrito el aumento de transportadores GLUT-2 en la membrana apical del enterocito en comparación de la membrana basolateral en fetos al final de la gestación y en los primeros días post parto, lo cual concuerda con nuestro estudio donde se encontró que desde la etapa fetal se encontró una marcación fuerte para el transportador en la membrana apical del enterocito manteniéndose hasta crías. En humanos, GLUT-2 aparece en el intestino delgado recién en el tercer tercio de gestación y cerca del nacimiento (Shu *et al*., 1997). A partir de estos resultados encontramos, que a diferencia de lo que ocurre para SGLT-1, GLUT-2 se expresa durante la etapa fetal tanto en especies precociales como altriciales.

La presencia de gran cantidad de transportadores tanto SGLT-1 como GLUT-2, observada en alpacas en las criptas intestinales durante el tercer tercio de gestación y en fechas cercanas al nacimiento facilitaría, la absorción de glucosa y estaría relacionada con el pico de absorción de glucosa que ocurre en el recién nacido, que ha sido descrito en cerdos (Puchal y Budington, 1992) y pollos (Barfull *et al.,* 2002) y estaría relacionado a los niveles elevados de glucosa sanguínea descrita en alpacas desde el nacimiento (Esquerre *et al.*, 1976; Rodriguez *et al*., 2012; Rodriguez *et al*., 2016).

Los enterocitos que recubren el epitelio intestinal presentan un glicocalix en la zona apical, formado por mucinas transmembrana que se sintetizan en el enterocito y se anclan a la membrana celular. Además, en el glicocalix se encuentran proteoglicanos de transmembrana y numerosos glicoconjugados que se unen a la porción de carbohidratos de las mucinas y de los proteoglicanos (Johansson *et al*., 2013). Este glicocálix, la membrana del enterocito y las uniones estrechas forman una unidad funcional, que cumple un rol en los procesos de digestión, absorción y protección de las células (An *et al.,* 2007; Vaishnava *et al.,* 2011) y proporciona una eficiente separación entre el material luminal y la lámina propia (Turner *et al.,* 1997; Sheng *et al*., 2013).

Las mucinas presentes en los enterocitos se caracterizan por tener un dominio extracelular N-terminal glicosilado, el dominio transmembrana, y una cola citoplasmática C-terminal, con sitios de fosforilación involucrados en la transducción de señales intracelulares (Johansson *et al*., 2013; Johansson y Hansson, 2016; Pelaseyed y Hansson, 2020). Dentro de estas mucinas tenemos a la MUC 1, 3, 4, 12, 13, 15, 17 y 20 que se distribuyen en diferentes porciones del intestino (Johansson *et al.,* 2013; König *et al*., 2016; Hansson, 2020). La MUC3, es una de las principales mucinas encontradas en los enterocitos, y se ubica a 1µm de las puntas de las microvellosidades de los enterocitos lo cual sugiere su participación en la formación de un glicocalix densamente glicosilado. Estas mucinas presentes en los enterocitos no participan en la formación del moco, como es el caso de la MUC2 presente en las CCAL. Son considerados sensores y están involucrados en la interacción con la microbiota, los cambios que se producen en ella y su función es de protección (Johansson *et al.,* 2011; Pelaseyed y Hansson, 2020).

García *et al.* (1995) describieron que el glicocalix de los enterocitos está formado por mucosustancias neutras como ácidas, con grupos carboxilo y sulfato unidos. En alpacas, se observó mediante PAS-AA la presencia de mucinas y glicoconjugados formando el glicocalix en la membrana apical de los enterocitos. En la etapa fetal, en todo el intestino el glicocalix presenta principalmente mucinas ácidas, manteniéndose esta característica en el ciego, colon ascendente y transverso hasta la adultez, pero con la adición de mucinas neutras y sialomucinas en colon descendente. En cambio, en el intestino delgado, se observaron mucinas neutras y sialomucinas

en la etapa postnatal, esto coincide con lo hallado por Montalvo (1966) en las diferentes porciones intestinales de alpacas adultas. En conejos, equinos y cerdos, Galotta (2006), describió una fuerte presencia de mucinas neutras en glicocalix de enterocitos de las vellosidades de yeyuno, íleon y epitelio superficial de colon. Cambios en el patrón de glicosilación de la mucina presente en los enterocitos puede causar procesos inflamatorios en el intestino, de igual manera el cambio de microbiota y la presencia de agentes patógenos como *Isospora suis* en cerdos altera el patrón de glicoconjugados en los enterocitos y en las CCAL (Choi *et al.,* 2003).

Mediante lectinhistoquímica se encontró un patrón único para el glicocalix de los enterocitos. En las vellosidades y en el epitelio superficial del intestino delgado e intestino grueso respectivamente, se observó marcación entre fuerte y moderada desde el primer tercio de gestación hasta la edad adulta con las lectinas RCA-1, DBA, SBA y WGA con las cuales se identificaron azúcares como D-galactosa, αN-acetilgalactosamina, α>β N-acetilgalactosamina, N-acetilglucosamina; patrón que es similar a lo encontrado en conejos adultos por Zanuzzi *et al*. (2010), en lechones de 27 días por Choi *et al*. (2003), en equinos por Galotta (2006) y por Massone y col. (1991) en íleon de bovinos y difiere a lo reportado por Galotta (2006) en conejos adultos quienes no encontraron marcación en colon con las lectinas RCA-1, DBA y SBA.

Con la lectina PNA se identificó la presencia de D-galactosa β3 N-acetilgalactosamina en el glicocalix de los enterocitos de intestino delgado, ciego y colon descendente desde el primer tercio de gestación hasta la adultez; sin embargo, no se observó en la etapa perinatal en duodeno, este resultado es similar al encontrado por Choi *et al*. (2003) en lechones de 27 días. En conejos adultos, Zanuzzi *et al*. (2010) reportaron marcación similar en duodeno, yeyuno y colon. Sin embargo nuestros hallazgos se diferencian de los encontrados por Galotta (2006) quien no encontró marcación en yeyuno de cerdos adultos y en ninguna porción intestinal de equinos adultos, y por Massone *et al.* (1991) que tampoco la encontró en bovinos adultos.

Con la lectina SJA se identificó la presencia de β N-acetilgalactosamina en el glicocalix de los enterocitos del intestino delgado de crías y adultos de alpacas, así como en algunas edades post nacimiento en ciego y colon ascendente. Este resultado coincide con lo observado en lechones de 27 días por Choi *et al*. (2003). De igual manera con la lectina GSL-1 se identificó la presencia de αD-galactosa, αN-acetilgalactosamina en algunas células de animales de algunas edades desde la etapa fetal hasta adultos en todo el intestino. En bovinos adultos, Massone *et al*. (1991) encontraron marcación variable en íleon para lectina GSL-1.

La afinidad por las lectinas Con A, LCA y PSA indica la presencia de α manosa y αD glucosa en el glicocalix de los enterocitos de alpacas. La lectina Con A, mostró positividad en

todas las porciones y en todas las edades estudiadas, de manera similar a lo encontrado en conejos por Zanuzzi *et al*. (2010) y en cerdos por Choi *et al*. (2003) y Galotta (2006). Galotta también demostró en equinos marcación con esta lectina en yeyuno e íleon, mientras que Massone *et al.* (1991) no encontró marcación en íleon de bovinos adultos. Estos resultados indican una gran variación interespecífica.

Con la lectina LCA se observó marcación principalmente en glicocalix del intestino delgado de alpacas desde el primer tercio de gestación; mientras que, en intestino grueso, la marcación fue variable dentro del mismo animal y según la edad, de manera similar a lo reportado en yeyuno de lechones de 27 días de edad (Choi *et al.,* 2003). Con la lectina PSA, se observó marcación desde el primer tercio de gestación en ciego, colon ascendente y colon descendente; mientras que en intestino delgado y colon trasverso la marcación fue principalmente en la etapa fetal, en crías no se observó marcación en yeyuno en ninguna edad y en duodeno no se observó marcación entre los 8 a 45 días de edad, esto es similar a lo encontrado en lechones de 27 días de edad (Choi *et al.,* 2003).

La marcación con la lectina UEA-1, determinó la presencia de α L-fucosa en el glicocalix principalmente después del nacimiento. En yeyuno, íleon, ciego y colon ascendente la marcación fue más homogénea tanto en vellosidades como en criptas, este resultado es similar al encontrado en íleon de bovinos adultos (Massone *et al*., 1991), en yeyuno y colon de conejos adultos (Zanuzzi *et al*., 2010), de equinos (Galotta, 2006) y en yeyuno de lechones de 27 días (Choi *et al.,* 2003). En duodeno de alpacas se observó marcación irregular en la primera mitad del segundo tercio de gestación y a partir del primer día post nacimiento, similar a cerdos adultos (Galotta, 2006). Esta presencia de L-fucosa en el glicocalix del epitelio intestinal de la alpaca, sería un factor facilitador para que bacterias simbióticas y patógenas como la *S. typhimurium* se unan al epitelio intestinal de la alpaca, como sucede en ratones (Goto *et al.,* 2016; Suwandi *et al.,* 2019), desencadenando cuadros inflamatorios, y predisponiendo a las crías a desarrollar cuadros entéricos.

De igual modo con la lectina PHA-E se identificó en el glicocalix de los enterocitos de alpaca, glicoconjugados con estructuras complejas como D-galactosa β4 N-acetilglucosamina β2 manosa α6 (N-acetilglucosamina β4) (N-acetilglucosamina β4 manosa α3) manosa β4, que también ha sido descrito en yeyuno de lechones de 27 días de edad por Choi *et al*. (2003).

Otro de los glicanos de estructuras complejas estudiado fue D-galactosa β4 N-acetilglucosamina β6 (N-acetilglucosamina β2 manosa α3) manosa α3, para lo cual se usó la lectina PHA-L. Se encontró marcación fuerte en el glicocalix de los enterocitos de intestino delgado y ciego; en duodeno desde el segundo tercio de gestación, en íleon y ciego desde el tercer

tercio de gestación y en yeyuno desde el nacimiento. La marcación en yeyuno de crías también fue demostrada por Choi *et al*. (2003) en lechones de 27 días. En colon se observó marcación en crías de algunas edades, pero no en adultos.

El citoplasma de los enterocitos presenta glicoconjugados en su citoplasma, los cuales varían según el estado de diferenciación y maduración celular. En la alpaca se demostró mediante la técnica de PAS-AA la presencia de glicoconjugados ácidos en duodeno en la etapa fetal, para luego pasar a glicoconjugados neutros que se observan hasta los 15 días de edad. En ciego y colon, la presencia de glicoconjugados en el citoplasma de los enterocitos del epitelio superficial se observa después del nacimiento y son principalmente neutros con presencia de algunas células con glicoconjugados ácidos en ciego, colon ascendente y colon transverso. Además, en colon descendente se pudo observar presencia leve de glicoconjugados ácidos en enterocitos de las criptas. Galotta (2006), reportó en cerdos, equinos y conejos la presencia de mucinas neutras en el citoplasma de los enterocitos de yeyuno, íleon y colon.

Mediante LHQ, con el uso de lectinas se marcaron los glicoconjugados presentes en el citoplasma de los enterocitos de la alpaca. Con la lectina RCA-1 se identificó la presencia de D-galactosa en todas las porciones intestinales en todas las edades, similar a lo encontrado en duodeno de humanos, mono Rhesus, perro y gato (Skutelsky *et al.,* 1989) y diferente de lo encontrado en cerdos (Galotta, 2006), conejos (Zanuzzi *et al*., 2010) y equinos (Galotta, 2006). Con la lectina DBA se identificó α N-acetilgalactosamina, en todas las porciones y edades, este resultado difiere del encontrado en conejos por Zanuzzi *et al*. (2010) que no encontraron marcación en ningún segmento y por Galotta (2006) que solo la halló en yeyuno; del mismo modo Skutelsky *et al*. (1989) no encontraron marcación en duodeno de perros, gatos, humano y mono Rhesus. Galotta (2006) encontró en equinos marcación en yeyuno y colon y en cerdos en íleon y colon, y Massone *et al*. (1991) la hallaron en el íleon de bovinos

La lectina SBA se utilizó para identificar α>β N-acetilgalactosamina, la cual se encontró en el citoplasma de todos los enterocitos de intestino delgado y grueso desde la etapa fetal hasta la adultez; de manera similar a lo encontrado en equinos y cerdos por Galotta (2006), en el íleon de bovinos por Massone *et al*. (1991), en duodeno de gatos por Skutelsky *et al*. (1989); pero en discrepancia con lo descrito en conejos por Zanuzzi *et al*. (2010) quien encontró marcación solo en colon.

La presencia de N-acetilglucosamina fue identificada con la lectina WGA, esta lectina también tuvo una marcación entre moderada a fuerte en el citoplasma de los enterocitos en todas las edades y porciones; de manera similar a lo descrito en cerdos, equinos y conejos por Galotta

(2006) y en duodeno de gatos, perros, mono Rhesus y humanos por Skutelsky *et al*. (1989), pero discrepando con lo publicado por Zanuzzi *et al*. (2010) quienes no encontraron marcación en intestino delgado y colon de conejos y por Massone y col. (1991) que observaron marcación leve en el íleon de bovinos.

La lectina Con A, fue positiva en el citoplasma de los de todas las porciones en las diferentes edades de manera similar a lo encontrado en conejos adultos, cerdos (Galotta, 2006; Zanuzzi *et al*., 2010), bovinos (Massone *et al.,* 1991), en duodeno de perros, gatos, humanos y monos Rhesus (Skutelsky *et al*. (1989), pero diferente a lo hallado en equinos donde Galotta (2006) no encontró marcación en colon.

Con la lectina PNA se identificó D-galactosa β3 N-acetilgalactosamina en enterocitos de intestino delgado y grueso desde la etapa fetal, principalmente en vellosidades y epitelio superficial. Esta marcación fue similar en íleon de bovinos (Massone *et al*., 1991) y diferente en conejos (Zanuzzi *et al*., 2010), perros, gatos, humanos y monos Rhesus (Skutelsky *et al*., 1989) donde no se ha descrito marcación con la lectina PNA. Galotta (2006) demostró marcación en colon de equinos e íleon y colon de cerdos.

La lectina GSL-1 se utilizó para identificar α D-galactosa, α N-acetilgalactosamina en el citoplasma de los enterocitos de alpacas. Se observó marcación en algunas células desde muy temprana edad tanto en intestino delgado y grueso, no observándose positividad alrededor del nacimiento; pero volviendo a observarse en crías y adultos en todas las porciones intestinales. En animales adultos se observó marcación en todas las células en íleon, ciego y colon, mientras que en yeyuno se observó solo en algunas células, lo cual es similar a lo observado por Massone *et al*. (1991) en íleon de bovinos adultos.

La identificación de α L-fucosa en el citoplasma de los enterocitos se realizó con la lectina UEA-1, encontrándose en todas las porciones tanto en crías como en adultos, a excepción del colon transverso. Esto difiere a lo encontrado en intestino delgado y colon de conejos (Zanuzzi *et al.,* 2010) y equinos (Galotta, 2006), y en el íleon de bovinos (Massone *et al*., 1991), donde no se encontró marcación en animales adultos. En cambio, en cerdos adultos, Galotta (2006) demostró marcación en íleon y colon y Skutelsky *et al*. (1989) encontró marcación en duodeno de perros y gatos.

La L-fucosa está relacionada a la proliferación de muchas bacterias patógenas, quienes utilizan los productos del catabolismo enzimático de la fucosa para su nutrición; los medios ricos en fucosa son lugares adecuados para la proliferación de estas bacterias (Stahl *et al.,* 2011;

Pacheco y Sperandio, 2015). Pero también especies comensales utilizan la fucosa como fuente de energía (Pacheco y Sperandio, 2015; Pickard y Chervonsky, 2015); por ejemplo, *Bacteroides fragilis,* acumula residuos de fucosa en sus glicanos de superficie para obtener una ventaja competitiva en la colonización en el intestino (Coyne *et al.,* 2005; Fletcher *et al.,* 2011). Los lactobacilos también producen glicoconjugados fucosilados, por ejemplo, Tytgat *et al*. (2016) demostró que los pili SpaCBA de *L. rhamnosus* GG se encuentran glicosiladas, además Sun *et al.* (2015) encontraron fucosiltransferasas en los genomas de *L. gasseri y L. delbrueckii*.

La fucosa es un componente abundante de los glicanos que se unen a proteíans y lípidos especialmente en la superficie luminal de las células epiteliales y en las secreciones mucosas. La fucosilación de las células epiteliales ocurre en el humano y el ratón, principalmente, por la fucosiltransferasa 2, mientras que la fucosiltransferasa 1 está restringida a células M (Sakamoto *et al.,* 1989; Hurd *et al*., 2005; Terahara *et al.,* 2011). La fucosiltransferasa 8 es importante en la fucosilación de los N glicanos de la superficie de las glicoproteínas (Miyoshi *et al*., 1999; Calderon *et al*., 2016). Por lo tanto, la presencia de carbohidratos fucosilados en las células epiteliales intestinales crea un medio ambiente adecuado para bacterias comensales y patógenas. A partir de nuestros resultados se demuestra que esta fucosilación sucede en las alpacas desde muy temprana edad, lo que se puede relacionar con la susceptibilidad para desarrollar cuadros entéricos. Hao *et al.,* (2020), demostró en ratones que expresan FUT8, que la infección por *S. Typhi* incrementa la fucosilación del núcleo de las células epiteliales intestinales. Sin embargo, también se incrementa la cantidad de microorganismos benéficos como Lactobaillus y *Akkermansia spp*., considerando este aumento como un mecanismo de control.

Con las lectinas PHA-E y PHA-L se identificaron estructuras complejas como D-galactosa β4 N-acetilglucosamina β6 (N-acetilglucosamina β2 manosa α3) manosa α3 con la primera y D-galactosa β4 N-acetilglucosamina β2 manosa α6 (N-acetilglucosamina β4) (N-acetilglucosamina β4 manosa α3) manosa β4 con la segunda. La positividad de la lectina PHA-E se observó principalmente en íleon y ciego después de los 8 días post nacimiento y con la lectina PHA-L se observó marcación desde la aparición de los ejes cripta vellosidad en la etapa fetal.

En la etapa postnatal, la glicosilación del epitelio intestinal juega un rol importante en los procesos de adhesión bacteriana y en el mantenimiento de la homeostasis intestinal. En lechones infectados con *E. coli* enterotoxigénica 09.K103:NM, 977P+ ST+, Sohn y Chae (2000) encontraron que en el glicocalix de los enterocitos de los animales infectados se incrementa la presencia de β N acetilglucosamina, α-manosa y αD glucosa, que fueron marcados con las lectinas WGA, Con A y PSA. La similitud encontrada en el patrón de unión a lectinas en las alpacas, podría relacionarse con la susceptibilidad que tienen estos animales a infecciones con *E. coli*.

8.2.2 Células caliciformes (CCAL)

Las CCAL son una de las principales células de defensa del epitelio intestinal, tienen como función principal la secreción de mucina y crear una capa protectora de moco (Birchenough *et al*., 2015; Dao y Lee, 2020). La forma de las CCAL en la alpaca es de copa, igual a lo descrito en otras especies (Ross, 2015), esta forma está dada por una citoarquitectura compleja y por la presencia de gránulos de mucina ubicados en su citoplasma (Barker, 2014).

Las CCAL distribuyen en todo el intestino, desde el duodeno hasta el recto, siguiendo un patrón similar al previamente descrito en alpacas adultas, (Montalvo, 1966), y en otros mamíferos como ratones y humanos (Ross, 2015; Stanford *et al*., 2020). En la alpaca, las CCAL se ubicaron inicialmente en la zona media apical de las evaginaciones, para luego, a partir de la organización de los ejes cripta-vellosidad, ubicarse principalmente en el zona media y basal de las vellosidades, en la zona apical de las criptas del intestino delgado y en la zona media basal de las criptas del intestino grueso, igual que en otros mamíferos como vizcacha (Tano de la Hoz *et al.,* 2019), equinos, conejo (Galotta *et al*., 2009) y cerdo (Lv *et al*., 2018).

La aparición de las CCAL en el epitelio intestinal de la alpaca ocurre en el primer tercio de gestación. A los 56 días, se observaron células cromófobas de forma globosa con núcleos basales, distribuidas en el epitelio de las diferentes porciones intestinales, y hacia los 80 días de gestación estas células se observaron diferenciadas con la forma típica de CCAL. Este resultado es similar al encontrado en bovinos hacia los 90 días de gestación (Asari *et al.,* 1986; Asari *et al*., 1987), cerdos a los 40 días de gestación (Dekaney *et al*., 1997; Oliveira *et al.,* 2017), coipú a los 105 días de gestación (Tano de la Hoz *et al.,* 2016) y humanos entre la novena y décima semana de gestación (Moxey y Trier, 1978). En cambio, en ratas aparecen al final de la gestación (entre 1os 18 y 19 días) (Neutra *et al*., 1984; Colony y Specian, 1987), muy probablemente esta diferencia se explique por la corta gestación y el estado de inmadurez al nacimiento que poseen los múridos.

En intestino grueso hay un incremento significativo del número de CCAL entre el primer y tercer tercio de gestación, que hace imposible el conteo celular, que en consecuencia solamente se realizó en el intestino delgado. En el momento del nacimiento se observó mayor número de CCAL en duodeno y menor en íleon. Pero posteriormente, en este último segmento ocurrió un incremento progresivo hasta la edad adulta, y se convirtió en la porción con mayor número de CCAL. Estos resultados son similares a lo encontrado en distintos mamíferos como lechones de 23 días de edad (Oliveira *et al.,* 2017), cabras adultas (Zhou *et al.,* 2020b) y roedores insectívoros de África (*Acomys spinosissimus, Crocidura cyanea, Amblysomus hottentotus*) (Boonzaier *et al.,* 2013), en donde se encontró mayor número de CCAL en íleon en comparación al duodeno en

estas especies. Las variaciones en el número de CCAL estarían influenciados por factores como el tipo de alimento, los cambios en la microbiota (Kim y Ho, 2010; Yan *et al.,* 2018) y el incremento de toxinas bacterianas (Engevik *et al*., 2019). Además, están relacionadas con las funciones que cumplen las CCAL en cada porción intestinal.

Existen diferentes tipos de CCAL, que se diferencian según el contenido de los gránulos citoplasmáticos, que están relacionados a la función que cumplen según ubicación en el eje cripta vellosidad; por ejemplo las CCAL de las vellosidades tienen una biosíntesis y secreción de mucina más rápida en comparación a las CCAL de las criptas, debido a la exposición a diferentes condiciones, como cambios en el pH, a las que están sometidas las vellosidades (Johansson, 2012).

En alpacas, desde el primer tercio de gestación, se identificaron diferentes tipos de CCAL en la misma porción intestinal y con variaciones por porciones intestinales y edades. En el intestino delgado se observaron CCAL con glicoconjugados neutros, ácidos y de contenido mixto, tanto en fetos como en crías: Este resultado es similar al encontrado en intestino delgado de cabras blancas Huang-huai (Zhou *et al.,* 2020b), roedores insectívoros de África (*Acomys spinosissimus, Crocidura cyanea, Amblysomus hottentotus*) (Boonzaier *et al.,* 2013), conejos (Sheahan y Jervis, 1976) y roedores de Arabia Saudita (*Acomys dimidiatus, Meriones rex, Meriones libycus*) (Johnson *et al*., 2016). En adultos todas las CCAL presentaron glicoconjugados ácidos, similar a lo descrito en elefantes adultos (*Loxodonta africana*) (Kotzé y Coetzee 1994), y a diferencia de lo descrito en ratones, hámster, gerbos (*Meriones unguiculatus),* cobayos, gatos y monos Rhesus adultos quienes presentan glicoconjugados mixtos con predominio de glicoconjugados ácidos; del mismo modo difiere de ratas, perros, babuinos (*Simia hamadryas)* y humanos, donde existen glicoconjugados mixtos con predominio de neutros en las CCAL (Sheahan y Jervis, 1976).

En ciego, colon ascendente y transverso, durante la etapa fetal, se observaron CCAL con glicoconjugados ácidos, neutros y mixtos, un resultado similar al encontrado en los roedores *Acomys dimidiatus, Meriones rex y Meriones libycus* adultos (Johnson *et al*., 2016). En crías se encontraron células con glicoconjugados ácidos y de contenido mixto y en adultos solo con glicoconjugados ácidos. Los resultados encontrados en crías son similares a los encontrados en CCAL de ciego y colon proximal de ratones, hámsters, cobayos, conejos, gatos, perros, monos Rhesus, humanos, gerbos y conejos adultos y en colon proximal de conejo y babuino (Sheahan y Jervis, 1976). Pero en cambio, difiere a lo descrito en colon de elefante (*Loxodanta africana*) (Kotzé y Coetzee 1994) y ciego de conejo y babuino (Sheahan y Jervis, 1976) donde hay predominio de glicoconjugados neutros.

En colon descendente se observó desde la etapa fetal hasta las crías la presencia de CCAL con glicoconjugados ácidos, neutros, mientras que en adultos se encontraron solo glicoconjugados ácido. Este resultado fue similar al encontrado en elefantes africanos (Kotzé y Coetzee 1994), roedores *Acomys dimidiatus, Meriones rex, Meriones libycus* adultos (Johnson *et al*., 2016), ratón, rata, hámster, cobayo, conejos, gatos, perros, monos Rhesus, gerbo y humanos (Sheahan y Jervis, 1976).

En el citoplasma de las CCAL de alpacas se observó la presencia de α N-acetilgalactosamina que fue reconocida por la lectina DBA. Esta lectina tuvo una afinidad entre leve a moderada desde el primer tercio de gestación en colon, y moderada a fuerte desde el segundo tercio de gestación en el resto de las porciones. La marcación fue más intensa en intestino delgado, ciego y colon ascendente. Estos resultados son similares a los hallados en bovinos adultos, por Massone *et al*. (1991) quienes encontraron marcación fuerte con la lectina DBA en CCAL de íleon, mientras que en conejos (Takeuchi *et al.,* 2007; Galotta *et al.*, 2009, Zanuzzi *et al*., 2010) y equinos (Galotta *et al*., 2009) hay marcación en intestino delgado y colon. Las investigaciones realizadas en cerdos han tenido resultados variables, Chae y Lee (1995) no encontraron marcación de CCAL en yeyuno e íleon de lechones entre 1 a 4 semanas de vida, al igual que Choi *et al*. (2003) en lechones de 27 días. En cambio, en conejos adultos Galotta *et al*. (2009) encontraron marcación leve en intestino delgado y ausencia de marcación en colon, este último resultado es similar al encontrado por Barresi *et al*. (1988) en niños.

Con la lectina RCA-1 se identificó D-galactosa en CCAL en intestino delgado y ciego desde el segundo tercio de gestación y desde el primer tercio de gestación en el colon. La marcación con esta lectina fue moderada en intestino delgado, ciego y colon ascendente y leve en colon transverso y descendente, lo cual es similar a conejos (Takeuchi *et al.,* 2007; Galotta *et al.,* 2009, Zanuzzi *et al.,* 2010); humanos (Fischer *et al.,* 1984), cerdos crías y adultos (Chae y Lee, 1995; Choi *et al.,* 2003; George *et al.,* 2007; Galotta *et al.,* 2009) y difiere de caballos, donde Galotta *et al.* (2009) describieron marcación fuerte en yeyuno, moderado en íleon y marcación irregular en colon.

Con la lectina GSL-1 se identificaron α D-galactosa y α N-acetilgalactosamina en el citoplasma de las CCAL de alpaca, encontrándose marcación fuerte en el intestino delgado y colon ascendente en los fetos del primer tercio y la primera mitad del segundo tercio de gestación. En la etapa postnatal desde el nacimiento se observa positividad en colon transverso y colon descendente; mientras que en yeyuno, íleon, ciego y colon ascendente aparece en edades posteriores. El duodeno fue negativo en todas las edades, y el colon transverso y descendente en los adultos. La marcación leve y variable en íleon de animales adultos es similar a lo observado

por Massone *et al*. (1991) en bovinos adultos, mientras que en cerdos gnotobióticos de 21 días de edad, George *et al*. (2007) describieron marcación moderada en íleon.

La presencia de α manosa, αD-glucosa en el citoplasma de las CCAL de alpacas se identificó con 3 lectinas, PSA, LCA y Con A. Se observó en todas las porciones intestinales una fuerte marcación en la etapa fetal con las lectinas PSA y LCA. Con la lectina PSA se encontró marcación variable entre leve a moderado en algunas células de duodeno y colon descendente en las diferentes edades de crías y en todas las porciones intestinales de adultos. Estos resultados se diferencian de lo descrito en intestino delgado lechones en crecimiento, donde Choi *et al*. (2003) y George *et al.* (2007) describieron marcación leve con las lectinas PSA, LCA mientras que Chae y Lee (1995), encontraron unión leve con la lectina LCA en la primera y cuarta semana de vida y moderada en la segunda y tercera semana de vida lo cual demuestra que se producen cambios con la edad del animal, que puede estar influenciado por diferente factores como alimento y cambios en la microbiota.

Con la lectina Con A no se encontró marcación de citoplasma de CCAL. Estos resultados con la lectina Con A, son similares a lo encontrado en íleon de bovinos (Massone *et al.,* 1991), intestino delgado y colon de caballos, cerdos y conejos adultos (Galotta *et al*., 2009). En cambio, difiere a lo hallado en lechones de entre 1 y 4 semanas, donde Chae y Lee (1995), Choi *et al*. (2003) y George *et al*. (2007) encontraron marcación leve en yeyuno e íleon. La afinidad se extiende a organismos filogenéticamente muy diferentes, como la serpiente de collar (*Natryx natryx*) donde Scillitani *et al*. (2012) encontraron un resultado similar. En cambio, Zanuzzi *et al*. (2010) y Takeuchi *et al*. (2007) en conejos, no encontraron marcación en las CCAL del intestino delgado, pero si en las de colon.

Otro de los residuos de azúcares estudiados fue la α>β N-acetilgalactosamina, que se identificó mediante el uso de la lectina SBA. Se observó desde el primer tercio de gestación positividad en ciego, colon ascendente y colon descendente. En cambio, en el resto de porciones se encontró marcación a partir del segundo tercio de gestación, principalmente se observó marcación moderada en casi todas las edades y porciones con excepción de colon ascendente y descendente, donde no se observó marcación entre fetos de tercer tercio de gestación y en los primeros días de vida. Estos resultados son similares a los encontrados en íleon de bovinos adultos (Massone *et al*., 1991), intestino delgado de conejos adultos (Takeuchi *et al*., 2007; Galotta *et al.,* 2009, Zanuzzi *et al.,* 2010), caballos (Galotta *et al.,* 2009), cerdos adultos y lechones (Choi *et al*., 2003; 2007; Galotta *et al.,* 2009) donde hay marcación entre leve a moderada; y difiere a íleon de lechones gnotobióticos que presentan marcación fuerte (George *et al.,* 2007), a intestino grueso de serpiente de collar (*Natryx natryx*) donde hay marcación variable (Scillitani *et al*., 2012) y a

lechones entre 1 a 4 semanas de vida donde en las primeras semanas se observa marcación que luego desaparece (Chae y Lee, 1995).

Con las lectinas WGA y SWGA, se estudió la presencia de N-acetilglucosamina en el citoplasma de las CCAL de alpacas. Con la lectina WGA, se encontró marcación en colon ascendente y descendente desde el primer tercio de gestación; mientras que en intestino delgado y ciego la positividad se manifestó desde el segundo tercio de gestación y en el colon trasverso a partir 8 días post nacimiento. Así mismo, en yeyuno de crías solo se observó positividad entre los 8 a 21 días de edad siendo esta leve. En duodeno y colon descendente en todas las edades, yeyuno de fetos e íleon de adultos la marcación fue moderada principalmente mientras que en el resto de porciones y edades fue leve. Estos resultados son similares a íleon de bovinos adultos (Massone *et al*., 1991), intestino delgado de caballos (Galotta *et al*., 2009) y conejos (Takeuchi *et al.,* 2007; Zanuzzi *et al.,* 2010), intestino delgado y grueso de cerdos de diferentes edades (Chae y Lee 1995; Choi *et al.,* 2003; George *et al*., 2007; Galotta *et al*., 2009) y serpiente de collar (Scillitani *et al.*, 2012); mientras que en humanos Fischer *et al.* (1984) y Barresi *et al*. (1988) encontraron marcación entre leve a fuerte en colon de niños y moderado en los de adultos.

En cambio con la lectina SWGA se encontró marcación de forma muy variable, no observándose marcación en íleon en ninguna edad, y en las otras porciones a partir del último tercio de gestación (yeyuno y ciego) o a diferentes edades en crías, similar a lo reportado por Chae y Lee (1995) y Choi *et al*. (2003) en lechones, quienes no encontraron marcación en íleon y diferente a lo reportado en conejos japoneses adultos por Takeuchi *et al*. (2007) quienes encontraron marcación en todas las porciones del intestino delgado.

Con la lectina SJA se identificó, desde el nacimiento, β N-acetilgalactosamina en el citoplasma de las CCAL, de algunas células del colon descendente. Mientras que en las otras porciones de intestino grueso se observó solamente en algunas edades y de forma variable. En intestino delgado se observó solo en algunas edades como en yeyuno de crías de 16 a 21 días y de 37 a 45 días, este resultado es similar a lo descrito en yeyuno e íleon de lechones de 14, 27 y 21 días de edad por Chae y Lee (1995), Choi *et al*. (2003) y George *et al*. (2007) respectivamente. En adultos no se observó marcación en intestino delgado, a diferencia de lo que ocurre en conejos adultos donde hay marcación moderada (Takeuchi *et al*., 2007).

Con la lectina UEA-1 se identificó la α L-fucosa, observándose positividad desde la etapa fetal en intestino delgado, ciego, colon ascendente y colon descendente, en colon transverso se observó marcación a partir del tercer tercio de gestación hasta crías de 21 días. En duodeno se observó marcación hasta los 15 días de edad y en crías de 35 a 45 días y adultos, en yeyuno no se

desde el nacimiento y en íleon se observó marcación hasta los 15 días de edad. Estos resultados son similares a duodeno de cerdos adultos (Galotta *et al.,* 2009), yeyuno e íleon de conejos adultos (Takeuchi *et al.,* 2007), y a íleon de lechones de 1 a 4 semanas donde existen cambios en la marcación que pasa de fuerte a débil conforme avanza la edad (Chae y Lee, 1995). De manera similar a lo encontrado en el cerdo, en íleon de alpacas existen cambios del patrón de marcación relacionados con la edad del animal. Los resultados encontrados en la alpaca difieren de lo descrito en yeyuno e íleon de lechones de 21 y 27 días (Choi *et al.,* 2003; George *et al.,* 2007), caballos adultos (Galotta *et al*., 2009), íleon de conejos adultos (Galotta *et al*., 2009 y Zanuzzi *et al.,* 2010) y de bovinos (Massone *et al*., 1991); en estos casos la marcación es de leve a moderada.

En intestino grueso, con la lectina UEA-1 se observó marcación en ciego desde el segundo hasta el tercer tercio de gestación y a partir de los 8 días de edad. En colon ascendente desde el primer tercio de gestación hasta los 21 días de edad y en crías de 28 a 36 días. En colon transverso se observó positividad desde el tercer tercio de gestación hasta los 21 días, mientras que colon descendente desde el primer tercio de gestación hasta los 27 días de edad. Estos resultados son diferentes a los encontrados en colon de cerdos adultos y colon de conejos adultos neozelandeses que presentan positividad entre leve y moderado y similar. En cambio, coinciden con lo descrito en caballos y conejos japoneses adultos (Galotta *et al*., 2009; Zanuzzi *et al*., 2010), en los que no se detectó marcación (Takeuchi *et al.,* 2007).

D-Galactosa β3 N-Acetilgalactosamina que fue estudiada con la lectina PNA, no se observó en el contenido de las CCAL, al igual que lo reportado en conejos adultos (Galotta *et al*., 2009), bovinos adultos (Massone *et al.,* 1991) y lechones entre 1 a 4 semanas de edad (Chae y Lee, 1995; Choi *et al*., 2003, George *et al.*, 2007). En equinos adultos, Galotta *et al*. (2009) reportaron marcación de CCAL en yeyuno, del mismo modo Zanuzzi *et al.* (2010) reportaron algunas células marcadas en duodeno y yeyuno de conejos neozelandeses, mientras que Takeuchi *et al*. (2007) reportaron marcación moderada en todas las porciones intestinales de conejos japoneses. Scillitani *et al.* (2012) describieron en la serpiente de collar (*Natryx natryx*) que no hay marcación en CCAL de intestino delgado, pero si en las de colon.

Las CCAL de fetos de alpacas mostraron alto contenido en sus gránulos de glicanos con estructuras complejas Galβ4GlcNAcβ2Manα6 (GlcNAcβ4) (GlcNAcβ4Manα3) Manβ4 l, las cuales fueron reconocidas con la lectina PHA-E. En la etapa postnatal solo se observó marcación moderada en el duodeno de recién nacidos y entre leve y moderada en crías de 16 a 27 días. No se observó marcación en el resto de las porciones; un resultado similar fue encontrado en conejos japoneses adultos (Takeuchi *et al.,* 2007), en cambio en lechones, Choi *et al*. (2003) encontraron marcación leve de las CCAL en el yeyuno a los 27 días de edad y George *et al*. (2007) marcación

moderada en las CCAL del íleon de lechones gnotobióticos de 21 días. Chae y Lee (1995) en un estudio en lechones en crecimiento, entre 1 a 4 semanas de vida, encontraron cambios en la marcación siendo fuerte en animales de 1 semana, pasando a moderado en animales de 2 semanas y a leve en animales de 4 semanas.

Diversos estudios han demostrado que la distribución y síntesis de glicoconjugados durante el desarrollo del epitelio intestinal, la distribución de CCAL, así como el patrón de glicosilación de estas varían espacialmente y temporalmente en respuesta a cambios morfológicos, fisiológicos y patológicos (Morrissey y Tymvios, 1978; Deplancke y Gaskins, 2001; Kavanaugh *et al*., 2015; Verhelst *et al.,* 2020). La expresión, glicosilación y estructuración de las mucinas, así como la composición del mucus, viscosidad, grosor y penetrabilidad pueden cambiar en respuesta a factores del hospedero o a factores externos como la microbiota, agentes patógenos, pre/probióticos, dieta, aditivos y contaminantes en el alimento y antibióticos, lo cual demuestra que la regulación de la barrera mucosa es muy compleja (Choi *et al.,* 2003; Kim y Ho, 2010; Johansson y Hansson, 2016; Etienne-Mesmin *et al*., 2019; Laudisi *et al.,* 2019). Estas variaciones se manifiestan en diferencias en el patrón de glicosilación que se traducen en las variaciones en la afinidad por distintas lectinas que se encuentran en las distintas edades, en las diferentes regiones intestinales y entre especies. Estas variaciones habían sido encontradas previamente en otras especies (Galotta *et al.,* 2009) y se confirman para la alpaca en la presente tesis, demostrando que en la alpaca existe variabilidad de glicoconjugados desde edades tempranas de la ontogenia.

8.2.3 Células de Paneth (CP)

La CP de la alpaca se localizaron en el mismo sector de las criptas del intestino delgado que en otros mamíferos (Nolte *et al.,* 2005; Zanuzzi *et al.,* 2008; Vásquez *et al*., 2014), incluidos otros miembros de la familia Camelidae (Abdel-Magied y Taha, 1995). Se encontraron en todas las porciones del intestino delgado desde los 293 días de gestación. En ciego y colon ascendente se observaron algunas células con características de CP en la etapa fetal, pero no se observaron en la etapa posnatal.

La morfología de las CP ha sido descrita en ratas (Behnke y Moe, 1964; Sundström y Helander, 1980), cobayos (Satoh *et al*., 1990; Vásquez *et al*., 2014), ratones (Trier *et al*., 1967; Satoh *et al.,* 1992), conejos (Zanuzzi *et al.,* 2008), caballos (Takehana *et al.,* 1998), ovejas (Ergün *et al.,* 2003) y humanos (Rodning *et al*., 1976; Ehrmann *et al.,* 1990), entre otros mamíferos. En todas estas especies, los CP son piramidales con gránulos fácilmente reconocibles mediante técnicas tradicionales como H-E, safranina y tricrómicos de Masson y Gómori. En alpacas, las

CP presentaron dos formas distintas: piramidal alargada y columnar alta. Estas células poseen gránulos eosinofílicos en la zona apical del citoplasma que no se pueden diferenciar claramente con técnicas tradicionales como H-E o PAS-AA. Con las coloraciones tricrómico de Masson y floxina tartrazina se pudieron identificar con mayor facilidad de color rojo intenso los gránulos característicos de la CP.

La ubicación de las CP en la alpaca, así como en las demás especies animales es en la base de la cripta junto a las células madre, de las cuales se originan (Potten *et al*., 1974; Basak *et al.,* 2014) y con las que mantiene una interacción cercana para la regulación de las mismas a través de vías de señalización y factores de crecimiento (Van Der Flier *et al*., 2009; Gerbe *et al*., 2011; Bohin *et al.,* 2020). Las CP poseen función de protección través de la secreción de defensinas, lisozimas, fosfolipasa A2 al lumen intestinal (Elphick y Mahida, 2005). Se ubican cerca de la lámina propia, que poseen capilares sanguíneos, células estromales subepiteliales y fibras nerviosas, esta ubicación favorece la función exocrina de la CP por incremento del flujo sanguíneo en la zona, y por la presencia de factores endocrinos, paracrinos, y neurotransmisores (Mantani *et al*., 2018).

Las CP en fetos de alpacas, crías y adultos fueron positivas a la detección de lisozima mediante inmunohistoquímica, este es un marcador confiable y ampliamente usado para la identificación de CP en diferentes especies como caballos (Takehana *et al.,* 1998; Masty y Stradley, 1991), ratones (Peeters y Vantrappen, 1975), conejos (Zanuzzi *et al.,* 2008), cobayos (Vásquez *et al*., 2014) y humanos (Erlandesen *et al.,* 1974). Adicionalmente, la falta de inmunoreactividad positiva a PCNA confirmó que las células identificadas son CP, debido a que estas pertenecen a la población epitelial estable, diferenciándolos del resto de células en proliferación presentes en la cripta.

En el presente estudio se observó que los gránulos de las CP de alpacas tienen marcación fuerte con la lectina SBA, marcación leve con la lectina Con A y marcación moderada con la lectina PNA, lo que nos hace sugerir que los gránulos de las CP de las alpacas contienen residuos de carbohidratos como α-β-N acetilgalactosamina, α manosa, α-D glucosa y D galactosa β3 N-acetilgalactosamina, lo cual difiere a lo reportado por Zanuzzi *et al*. (2008) y Martínez *et al*. (2009) quienes estudiaron el patrón de unión a lectinas de los gránulos de las CP en conejos y ratas, respectivamente. Estos autores identificaron que las lectinas DBA, SBA y WGA presentan afinidad por los gránulos de las CP con intensidad variable, lo que indica la presencia de residuos de carbohidratos, como N-acetil-glucosamina, ácido N-acetilneuramínico, α-N acetilgalactosamina y α-β-N acetilgalactosamina. Por el contrario, en humanos y ratones los gránulos pueden ser marcados por UEA-1, lectina que identifica α fucosa. Se demuestra entonces

que los gránulos de las CP poseen glicoconjugados con diferente composición de glicanos según la especie.

La diferenciación temprana de las CP puede relacionarse con su participación activa en los mecanismos de defensa intestinal durante la lactancia, para proteger a los recién nacidos contra enfermedades entéricas infecciosas, principal causa de mortalidad perinatal en alpacas (Rosadio *et al*., 2012). En cuanto a su tamaño tanto el eje mayor, como el eje menor y el área, fueron superiores a los hallados en conejos (Zanuzzi *et al*., 2008) y similares a los determinados a cobayos (Vásquez *et al*., 2014). En la alpaca se encontró área celular entre 88 a 202 μm^2, eje mayor entre 15 a 23 µm y eje menor entre 5 a 9 µm desde la etapa fetal hasta adultos. Estos valores se diferencian del conejo adulto donde el área descrita está en 77 μm^2, eje mayor de 12 µm y eje menor de 7 µm (Zanuzzi *et al*., 2008). En el caso de cuyes Vásquez *et al*. (2014) describieron CP con áreas comprendidas entre 100 a 200 μm^2, eje mayor entre 13 a 21 µm y eje menor de 7 a 12 µm.

Para determinar y comparar el número de CP, analizamos las células positivas al anticuerpo lisozima y las comparamos en las diferentes etapas de desarrollo. Aunque el uso de este método puede subestimar el número total final, fue la técnica más apropiada para distinguirlas en la alpaca, debido a las características propias de estas células, menos evidenciables con las técnicas convencionales que en otros mamíferos. Las células positivas a lisozima se organizaron en pequeños grupos (2-3) o se encontraron dispersas entre otras células de la base de las criptas en todas las porciones de intestino delgado a partir del día 293 de gestación. La presencia de CP en la etapa fetal también ha sido descrita en humanos por Rumbo y Schiffrin (2005) y Kamdasamy *et al.* (2014) desde las 13.5 semanas de gestación, con un incremento significativo a partir de la semana 23 de gestación (Mallow *et al*., 1996; Stanford *et al*., 2020, Heida *et al*., 2016), en contraste a especies altriciales, como los ratones, donde estas células aparecen a partir del día 7 después del nacimiento (Bry *et al*., 1994). En cerdos y bovinos no han sido descritas CP en la etapa fetal a pesar de que las criptas se desarrollan en la etapa fetal (Doughri *et al.,* 1972; Dekaney *et al*., 1997). Las variaciones en el momento de la diferenciación no podrían relacionarse entonces con la característica altricial-precocial de la especie.

En el presente trabajo encontramos que el número de CP aumentó después del nacimiento hasta la edad adulta, siendo en yeyuno e íleon, donde se observa el mayor incremento. El íleon es la porción con mayor densidad de CP en adultos; al igual que ocurre en ratas y cobayos donde el número de CP aumenta de forma progresiva de duodeno a íleon después del nacimiento (Behnke y Moe, 1964; Vásquez *et al*., 2014). A diferencia de lo observado en esta tesis, en un estudio realizado por Lira y *et al*. (2012) crías de alpacas de entre 0 y 21 días de edad no se encontraron

diferencias entre porciones intestinales y edades, quizás debido al número reducido de animales y edades comprendidas en el estudio. En humanos el mayor número de CP ha sido descrito en duodeno e íleon (Singh, 1971), en ratones en duodeno y yeyuno (Cheng *et al.,* 1969) y en ovejas adultas en yeyuno (Ergün *et al.,* 2003). Todo lo antes mencionado nos demuestra que existen diferencias específicas por especie y edad en la distribución y número de CP en el intestino delgado, que podrían relacionarse con las dietas o con diferencias en la microbiota.

Este aumento en el número de CP estaría asociado con una mayor expresión de péptidos antimicrobianos, como las defensinas, detectados en el epitelio intestinal de alpacas jóvenes entre 0 a 42 días de edad (More *et al*., 2011) y relacionados con la susceptibilidad de estos animales a desarrollar cuadros entéricos causadas por coccidias, *E. coli* y *Clostridium sp.* (Palacios *et al.,* 2004; Palacios *et al.,* 2005; Rosadio *et al*., 2010). Por lo tanto, el menor número de CP encontrado en el intestino de alpacas recién nacidas y crías en los primeros días edad puede relacionarse con la ocurrencia más frecuente de enfermedades entéricas en comparación con animales de mayor edad.

En humanos y ratones ha sido descrito que cambios en la microbiota y exposición a sus componentes como lipopolisacáridos, ácido lipoteico, lípido A, muramildipéptido y componentes de la pared celular bacteriana principalmente al dipéptidomuramil de los peptidoglicanos incrementan la actividad secretora de las CP. También, son inductores de su actividad algunos cambios en el alimento y los estímulos colinérgicos (Ayabe *et al*., 2000; Inohara *et al*., 2003; Kelly *et al.,* 2004; Elphick y Mahida 2005; Keshav, 2006). En cambio, la deficiencia de zinc disminuye la diferenciación de CP y el contenido de los gránulos secretores (Giblin *et al.,* 2006). Estos mecanismos no han sido estudiados con profundidad en la alpaca.

8.2.4 Células Enteroendocrinas (CEE)

Las CEE cumplen un rol importante en la regulación de la función del TGI, median la quimiosensibilidad luminal (Reimann *et al*., 2012; Furness *et al*., 2013). En respuesta a estímulos del medio ambiente intestinal, secretan péptidos que actúan sobre el sistema endocrino, nervioso e inmunológico, codificando y modulando respuestas fisiológicas adaptativas (Van Loy *et al*., 2010; Nässel y Wegener, 2011). Estas células representan alrededor del 1% del epitelio intestinal (Gribble y Reimann, 2017; Worthington *et al.,* 2018). En la alpaca las CEE fueron las que se observaron en menor frecuencia en comparación con enterocitos, CCAL y CP. Fueron identificadas desde el primer tercio de gestación, lo que concuerda con lo descrito por Stanford *et al*. (2020) en humanos y por Dekaney *et al*. (1997) y Wille y Winkler (1998) en bovinos y cerdos que encontraron células productoras de serotonina desde la primera mitad del primer tercio de

gestación, lo que estaría relacionado con la inducción temprana de la motilidad del intestino en desarrollo (Toofanian, 1984); y difiere de lo descrito por Ceccarelli *et al*. (1991) en ovinos que observaron células productoras de serotonina, neurotensina en el segundo tercio de gestación y lo descrito por Upchurch *et al.* (1996) en ratones que encontraron células productoras de péptido YY a inicios del tercer tercio de gestación. La aparición muy temprana de estas células en todas las especies estudiadas (aún en las altriciales) podría relacionarse con la necesidad de que el intestino esté preparado en el momento del nacimiento para poder realizar los procesos digestivos.

Las CEE en la alpaca se localizaron en las diferentes porciones intestinales, desde duodeno hasta colon descendente. Dentro de cada segmento la ubicación fue en la zona media-basal de las vellosidades en el intestino delgado y en la zona media-basal de las criptas del intestino grueso, de manera similar a lo encontrado en humanos, ovinos y ratones (Buffa *et al.* 1978; Ceccarelli *et al.,* 1991; Schonhoff *et al.,* 2004; Sternini *et al.* 2008). Las CEE se clasifican según la hormona que producen. En esta tesis se estudiaron en la alpaca 4 tipos de células CEE: L, K, I y N, las cuales han sido descritas previamente en otros animales como humanos, ratón, ratas, cobayos, cerdos (Polak *et al.,* 1973; Eissele *et al*., 1992; Reimann *et al*., 2008; Anglas *et al.,* 2012; Habib *et al*., 2012; Haber *et al.,* 2017). En intestino delgado se encontraron los 4 tipos celulares, mientras que en intestino grueso solo células L y N, este resultado cual confirma lo descrito por Buffa *et al*. (1978) quien observó en humanos que en el intestino grueso existe menos diversidad de CE que en el intestino delgado.

Las CEE presentan vesículas en su citoplasma, cuyo contenido puede ser estudiado mediante inmunohistoquímica utilizando anticuerpos para marcadores generales como cromogranina, sinaptofisina o identificando a la hormona que secreta el tipo celular (Varndell *et al.,* 1985; Weidenmann *et al.*, 1986, Rindi *et al.,* 2004). Esta última técnica fue empleada en el presente trabajo para identificar los 4 tipos de CEE. Para las células L se utilizó anticuerpo anti GLP-1, para las células K se utilizó anticuerpo anti GIP, para las células I se utilizó anticuerpo anti CCK y para las células N anticuerpo anti neurotensina.

La primera población de CEE identificada en la alpaca alrededor del día 56 de gestación fue la célula L. Estudios realizados en humanos y conejos han demostrado que las células L secretan una gran variedad de hormonas gastrointestinales, como GLP-1, GLP-2, glicentina, oxintomodulina y péptido YY (Fiocca *et al*., 1987, Nilsson *et al.*, 1991, Anini *et al.,* 1999; Arora *et al.,* 2018) en respuesta a una variedad de productos de la digestión como carbohidratos, proteínas y grasas (Elliott *et al*., 1993; Herrmann *et al.,* 1995) y la microbiota (Arora *et al*., 2018). Cumple un rol importante en los procesos de absorción de nutrientes y homeostasis energética (Fehmann y Habener, 1992, Mari *et al.,* 2002; Sandoval *et al*., 2008, Vahl *et al*., 2010). En el

presente estudio la identificación de la célula L se realizó mediante la identificación de su producto GLP-1. La distribución de las células L fue desde duodeno hasta colon descendente, similar a lo encontrado por Cristina *et al*. (1978) y Sjolund *et al*. (1983) en humanos, Anglas *et al*. (2012) en cobayos y Chimerel *et al.* (2014) en ratones. En alpacas, es el tipo de CEE estudiada la más abundante tanto en intestino delgado como grueso. Las células L se encontraron en un número de entre 0 y 3 células por eje cripta vellosidad. El número fue mayor en el intestino delgado a diferencia de lo encontrado por Baggio y Drucker (2007) en humanos, con una población más numerosa de células L en íleon y colon. Estas diferencias probablemente se relacionen con variaciones en el proceso digestivo de ambas especies.

El segundo tipo de CEE identificado en la alpaca fue la célula K, que produce GIP. Las células K productoras de GIP fueron identificadas en duodeno y yeyuno de la alpaca y de otros animales como porcinos (Bacarese-Hamilton *et al.,* 1984), ovinos (Ceccarelli *et al.,* 1991), humanos (Buchan *et al*., 1978; Bacarese-Hamilton *et al*., 1984; Rindi *et al.,* 2004) y ratas (Gespach *et al.,* 1979). Las células K se observaron en duodeno desde el día 119 de gestación y en el yeyuno a partir de los 230 días de gestación. La presencia de células K desde la etapa fetal ha sido descrito también por Gespach y col. (1979), quienes identificaron células K en ratas desde el segundo tercio de gestación, por Alumets *et al.* (1983) quienes describieron este tipo celular en intestino delgado de cerdos desde la sexta semana de gestación y por Ceccarelli *et al.* (1991) quienes encontraron en íleon y colon de ovinos desde los 90 a 100 días de gestación. En alpacas, se encontraron en un número de 0 a 1 células por eje cripta vellosidad, su ubicación fue principalmente en la zona basal de la vellosidad, a diferencia de la ubicación apical en las vellosidades descrita en ovinos (Ceccarelli *et al.,* 1991). El número de células puede cambiar en diferentes enfermedades por ejemplo Jorsal *et al*. (2018) encontraron que en humanos diabéticos existen células K en colon, pero la densidad celular en el intestino delgado es menor.

El GIP es una incretina que estimula la liberación de insulina pancreática pospandrial y juega un rol importante en la regulación de la homeostasis de la glucosa (Creutzfeldt, 1979); es coagonista de GLP-1 y participa en la regulación del apetito (Jorsal *et al*., 2018). Estimula la liberación de glucagón por las células α de páncreas en sujetos normales durante horas de ayuno (Christensen *et al.,* 2011), y al igual que el GLP-1 está relacionado con cuadros de hiperglucemia (Dunning y Gerich, 2007; Campbell y Drucker, 2013), resistencia a la insulina y diabetes tipo 2 en humanos (Holst y Rosenkilde*,* 2020). En estos últimos casos donde se observa pérdida de la función de los receptores de GIP en las células β del páncreas (Vilsbøll *et al.,* 2003; El y Campbell, 2019).

La alpaca presenta una normoglucemia elevada desde la etapa fetal (Huaynates *et al.,* 2016), así como resistencia a la insulina fisiológica desde el nacimiento (Esquerre *et al*., 1976, Esquerre *et al.,* 1979; Llerena, 1983). A partir de estas características esperábamos encontrar diferencias en la distribución y la cantidad de las células K y L con respecto a otras especies. Específicamente, especulábamos con la existencia de un mayor número de células K y un menor número de células L, acompañado de cambios en la distribución como ocurre en humanos diabéticos (Jorsal *et al.,* 2018). Sin embargo, estas células se distribuyen en la alpaca de manera similar a como lo hacen en cerdos (Alumets *et al.,* 1983), humanos (Sjolund *et al.,* 1983; Rindi *et al.,* 2004; Baggio y Drucker, 2007), cobayos (Anglas *et al.,* 2012) y ratones (Chimerel *et al.,* 2014). Por lo tanto los cambios en estas células no parecen encontrarse entre los mecanismos involucrados en la elevada normoglucemia y la resistencia a la insulina que presenta la alpaca.

El tercer tipo en obsede CEE en observarse en el intestino de la alpaca durante el desarrollo del TGI fue la célula N productora de neurotensina, que fue detectada alrededor de los 120 días de gestación, inicio del segundo tercio de gestación, tanto en intestino delgado como grueso, similar a lo descrito en cerdos en donde fue observado desde la sexta semana de gestación (Alumets *et al.,* 1983), ovinos desde la semana 90 a 100 días de gestación (Ceccarelli *et al.,* 1991) y ratones desde los 16 días de gestación (Upchurch *et al*., 1996). Su distribución en fetos alcanzó desde el duodeno hasta el colon transverso, una distribución similar a la observada en fetos de ovinos y ratones (Ceccarelli *et al.,* 1991; Upchurch *et al*., 1996). En crías de alpacas las células N desaparecen gradualmente desde ciego hasta colon transverso y en adultos solo se observa en intestino delgado, este resultado es similar al descrito por Rindi *et al*. (2004) quienes encontraron en humanos presencia de células N solo en intestino delgado, al igual que Alumets *et al*. (1983) en cerdos adultos: Por el contrario, Englander y Greeley (2006) y Kuhre *et al*. (2015) en ratas y ratones adultos, donde encontraron células N desde estómago hasta colon. Otros autores han descrito la presencia de células N, productoras de neurotensina en diferentes animales como

Las células N producen neurotensina, producto que se utilizó para la identificación de las células N en la alpaca. La neurotensina tiene como función mediar la secreción gástrica de cloruro, la motilidad del TGI y el crecimiento celular, ha sido identificada por diferentes técnicas en intestino delgado de bovinos (Kitagbi *et al*., 1976), humanos (Rossel y Rökaeus, 1979) y perros (Reasbeck *et al.,* 1984) y su secreción es estimulada principalmente por la grasa de la dieta, y en menor proporción por la glucosa y aminoácidos (Ferris *et al*., 1985b; Englander y Greeley, 2006). También podría estar involucrada en cuadros inflamatorios por diferentes agentes patógenos como en humanos *Clostridium difficile* y en la activación de mastocitos (Castagliuolo *et al.,* 1999,

Mustain *et al*., 2011). Las diferencias encontradas en su distribución podrían relacionarse con la dieta, ya que, en la mayoría de las especies, quedan limitadas al intestino delgado en la vida adulta.

El cuarto tipo de CEE identificada en la alpaca fue la célula I, cuya función es secretar colecistoquinina (CCK), que fue utilizada para su identificación mediante IHQ. Las células I se ubicaron, al igual que la célula K, en la zona basal de las vellosidades en duodeno y yeyuno. Este tipo celular ha sido identificado también en otras especies como humanos, ratas, ratones y ovinos (Polak *et al.,* 1975; Smith *et al.,* 1985; Buchan *et al*., 1978; Ceccarelli *et al*., 1991, Rindi *et al*., 2004). En la alpaca se observaron en duodeno desde el final del primer tercio de gestación y en yeyuno a partir de la segunda mitad del segundo tercio de gestación en un número de 0 a 2 células por eje cripta vellosidad. La localización es similar a la encontrada por Dubois *et al*. (1976), en duodeno de fetos humanos desde la décima semana de gestación, en ovinos por Ceccarelli *et al*. (1991) desde los 90 a 100 días de gestación y en ratones por Upchurch *et al.* (1996) en fetos desde los 16 días de gestación.

Estudios realizados en diferentes especies, han demostrado que la secreción de las células I está regulado por la presencia de ácidos grasos y aminoácidos en el lumen intestinal (Liddle *et al.,* 1985). Las células I son las encargadas de integrar señales centrales y periféricas para la liberación de hormonas y para la señalización hacia el cerebro mediada por aferentes vagales para inducción de la saciedad (Liddle, 1998; Sykaras *et al.,* 2012). La CCK, inhibe el vaciamiento gástrico, y estimula el vaciamiento de la vesícula biliar y la secreción de enzimas pancreáticas (Engelstoft *et al*., 2008; Liou *et al*., 2011). Como se postuló para otras hormonas, la diferenciación temprana de las células productoras de CCK, hormona con numerosas y diversas funciones en la regulación de la fisiología digestiva, ser relacionaría con la necesidad de que el sistema digestivo sea eficiente desde el nacimiento.

A partir de lo encontrado en las cuatro poblaciones celulares enteroendocrinas estudiadas, podemos observar que su distribución es bastante similar en distintas especies de mamíferos, esto podría explicarse porque sus productos de secreción regulan procesos básicos de la digestión, comunes a animales con diferentes tipos de alimentación.

8.3 pH DE LA MUCOSA INTESTINAL

Otro de los procesos importantes que ocurren en el intestino después del nacimiento, es el mantenimiento del medio ambiente intestinal, que cumple un rol importante en la regulación de los procesos de proliferación, diferenciación y maduración del epitelio intestinal. Dentro de los factores que deben mantenerse en niveles homeostáticos en el medio ambiente intestinal se encuentra el pH tanto de la mucosa como del contenido luminal. En camélidos sudamericanos,

existen variaciones del pH a lo largo del tracto intestinal que reflejan las diferencias en las actividades digestivas y en las diferencias de la microbiota en cada porción (Esquerre y Samaniego, 1976), que estarían relacionadas con cambios en el alimento, en la microbiota, en la actividad secretoria del epitelio intestinal, así como con variaciones en el metabolismo energético del animal. La alpaca durante su ontogenia pasa de un estado no ruminal con elevada glucemia (nacimiento a 1 mes de edad), a un estado transicional (entre segundo y tercer mes de vida) con disminución de la glucemia y elevación de AGV, y al final a un estado rumiante (cuarto mes de vida en adelante), donde la producción de AGV en el TGI es mayor (Esquerre *et al.*, 1976).

El mantenimiento de un pH estable es importante para el mantenimiento de la microbiota. Sin embargo, los valores de pH pueden sufrir modificaciones importantes por diferentes motivos; por ejemplo, cuando hay baja cantidad de sodio en la dieta, el antitransportador Na^+-H^+ no permite la salida del H^+ hacia la luz, y ocurre un aumento del pH intestinal (Murer *et al*., 1976; Gunther y Wright, 1983; Cassano *et al*., 1984, Kinne-Saffra, 1985); así mismo Kobayashi *et al*. (2003) han demostrado en humanos que el pH ácido del intestino delgado favorece la absorción de diversas sustancias.

En este estudio, se demostró que, en alpacas, cada porción intestinal presenta características únicas, con valores de pH variados. En yeyuno se observó una tendencia hacia la acidez en comparación al íleon, este resultado confirma lo descrito por Hubel (1969), quien demostró que a nivel de yeyuno hay una mayor acidez, lo que puede favorecer una mejor absorción de dipéptidos y aminoácidos neutros debido a que usa un cotransportador que permite el ingreso de dipéptidos en presencia de mayores concentraciones de H^+ (Ganapathy y Leibach, 1983; Ganapathy *et al*., 1984; Takuwa *et al*., 1985). Así mismo, el pH en esta porción debe mantenerse relativamente constante, pues es importante en la absorción de electrolitos débiles y de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) (Rechkemmer, 1991). En intestino grueso de crías, se observa que a nivel del ciego y colon ascendente el nivel de pH intestinal es menor en comparación de las otras porciones de colon, mientras que en adulto desde íleon hasta colon descendente los valores son similares, lo que indicaría que la producción de AGV se mantiene constante en estas porciones, al igual que se demostró en roedores y humanos (Cummings *et al.,* 1987).

IX. CONCLUSIONES

En el presente estudio se incluyó animales desde los 46 días de gestación hasta adultos, y se utilizaron diferentes técnicas para determinar el proceso de ontogenia del epitelio intestinal, bajo las condiciones que se desarrolló el estudio se concluye que:

1. El desarrollo intestinal en la alpaca se inicia en el primer tercio de gestación; observándose las diferentes porciones intestinales a partir de los 80 días de gestación las que continúan en su proceso de diferenciación y maduración hasta la etapa postnatal.
2. La túnica mucosa presenta todas sus estructuras desde el final del segundo tercio de gestación, con presencia de criptas y vellosidades, músculo de Brücke y muscular de la mucosa. En la submucosa se observó la presencia de glándulas de Brünner desde el tercer tercio de gestación. Las capas musculares se observaron desde el primer tercio de gestación, así como la formación del plexo mientérico entre ellas, y de la serosa.
3. La alpaca es una especie que al nacimiento presenta un epitelio intestinal estructurado y funcional, con todos los tipos celulares presentes. El epitelio intestinal sufre cambios morfológicos y morfométricos desde los 46 días de gestación, edad de inicio del estudio, pasando de un epitelio seudoestratificado a un epitelio cilíndrico simple que recubre criptas y vellosidades a partir del segundo tercio de gestación hasta la edad adulta.
4. Las vellosidades intestinales presentan enterocitos fetales en el tercer tercio de gestación los cuales son reemplazados por enterocitos tipo adulto en el periodo perinatal, periodo en donde se observa gran cantidad de células en apoptosis en las vellosidades, así como un alto índice de células en proliferación en las criptas y base de las vellosidades.
5. El epitelio del intestino grueso presenta vellosidades en la etapa fetal, las cuales se pierden en el periodo perinatal, quedando recubierto por el epitelio superficial. En este periodo se observó un gran número de células en apoptosis así como una alta tasa de

proliferación en criptas, lo cual está relacionado a la pérdida de las vellosidades y al incremento en el tamaño de las criptas.

6. La alpaca presenta un patrón de glicosilación propio de la especie que varía con la edad y la porción intestinal, así también con el tipo celular, tanto en glicocalix como citoplasma se encuentran azúcares como D-galactosa, αN-acetilgalactosamina, α>β N-acetilgalactosamina, N-acetilglucosamina, α L-fucosa, α manosa, así como estructuras complejas.
7. Desde la etapa fetal, el epitelio intestinal, en las diferentes porciones presentan enterocitos, células caliciformes, células de Paneth y células enteroendocrinas.
8. Los enterocitos están presentes desde finales del primer tercio de gestación, y se identificaron mediante la presencia de transportadores de glucosa SGLT-1 y GLUT-2, así como por la no inmunoreactividad a PCNA.
9. Las células caliciformes se observaron desde los 56 días de gestación, diferenciándolas por su estructura, así como por su contenido, presentan positividad a la presencia de mucinas y afinidad a diferentes lectinas. Presentan un patrón único de expresión de glicoconjugados, el cual varía con la edad, porción intestinal y la zona de ubicación dentro del eje cripta vellosidad, lo cual hace suponer que la alpaca presenta diversos tipos de células caliciformes que cumplen variadas funciones en el tracto intestinal.
10. Las células de Paneth están presentes en la alpaca desde los 293 días de gestación, se ubican en las criptas del intestino delgado y tienen forma piramidal alargada y columnar alta, presencia de gránulos citoplasmáticos que se observan con tricrómico de Masson, Floxina Tartrazina y lisozima, así también presentan marcación con las lectinas SBA, Con A y PNA. Estas células se ubican en la base de las criptas en grupos de 2 a 3 y en un mayor número en el íleon de alpacas adultas.
11. Se identificaron 4 tipos de células enteroendocrinas, célula L, N, I y K. las células L y N se distribuyeron desde duodeno hasta colon, mientras que las células I y K se encontraron solo en duodeno y yeyuno.
12. La célula L se identificó desde los 56 días de gestación, lo cual indica el rol importante que cumple esta célula y la horma secretada GLP-1 en el desarrollo del feto. Esta célula fue la que mayor densidad y distribución presentó de las células enteroendocrinas estudiadas.
13. La célula enteroendocrina N secretora de neurotensina fue identificada desde los 120 días de gestación. En la etapa fetal se la observó desde duodeno hasta colon transverso, en crías va desapareciendo de ciego y colon conforme avanza la edad, para en la edad

adulta solo observarse en intestino delgado, lo cual nos indicaría el rol importante que cumple en la función intestinal durante el desarrollo intestinal.

14. Las células K e I se identificaron desde el final del primer tercio de gestación en duodeno y en yeyuno a partir del segundo tercio de gestación, tuvieron una menor densidad poblacional con respecto a las células L y N. La célula K produce péptido inhibidor gástrico (GIP), mientras que la célula I produce colecistoquinina, ambas hormonas relacionadas a diferentes funciones del tracto gastrointestinal.
15. La ontogenia del epitelio intestinal de la alpaca incluye procesos de proliferación, morfogénesis, diferenciación y maduración, los cuales se superponen entre sí y es un proceso continuo a lo largo de la vida del animal.

X. RECOMENDACIONES

A partir del trabajo se desprenden las siguientes recomendaciones:

1. Continuar y profundizar el estudio de células enteroendocrinas en el tracto gastrointestinal, para determinar otros tipos de CEE, y así poder relacionarlas con el rol que cumplen estas células en el funcionamiento del TGI de la alpaca y en el metabolismo del animal.
2. Desarrollar estudios que analicen cambios en el patrón de glicosilación en los enterocitos y células caliciformes en animales con cuadros entéricos, determinando los cambios que sufren los glicoconjugados cuando son expuestos a microbiota patógena.
3. Caracterizar la composición de los gránulos de las células de Paneth en diferentes momentos de la ontogenia en las diferentes porciones de intestino delgado y grueso y relacionarlo con la sensibilidad del animal a cuadros entéricos.
4. Estudiar a las células sensitivas en el epitelio intestinal y la función que cumplen estas en la fisiología digestiva.
5. Realizar un estudio detallado sobre el sistema nervioso entérico y de las células intersticiales de Cajal y su función en el tracto digestivo desde la etapa fetal.
6. Relacionar la distribución de las células enteroendocrinas y la resistencia a la insulina y los niveles de glucemia de las alpacas.

XI. BIBLIOGRAFÍA

Aba MA. 2014. Anatomy and physiology of reproduction in the female llama and alpaca in: Llama and Alpaca care. Elsevier Inc 1st edition. Canada pp: 140 – 150.

Aba MA, Bravo PW, Forsberg M, Kindahl H. 1997. Endocrine changes during early pregnancy in the alpaca. Anim Rep Sci 47: 273-279.

Abdel-Magied EM, Taha AAM. 1995. A comparison of the structure of granular cell T type in the intestinal epithelium of the camel with Paneth cells of the rabbit. Journal of the King Saud University 7(1): 51-62.

Abrams GD, Bauer H, Sprinz H. 1963. Influence of the normal flora on mucosal morphology and cellular renewal in the ileum. A comparison of germ-free and conventional mice. Lab Invest. 12: 355–364.

Adachi S, Yoshida H, Kataoka H, Nishikawa SI. 1997. Three distinctive steps in Peyer`s patch formation of murine embryo. Int Immunol 9(4): 507-514.

Adams GP, Ratto MH. 2001. Reproductive Biotechnology in South American camelids. Rev Inv Vet Perú Suppl 1: 134 -141.

Adams GP, Ratto MH, Huanca W, Singh J. 2005. Ovulation-inducing factor in the seminal plasma of alpacas and llamas. Biol Reprod 73: 452-457.

Adler KB, Tuvim MJ, Dickey BF. 2013. Regulated mucin secretion from airway epithelial cells. Front Endocrinol 18 (4): 129.

Adriaenssens A, Lam BY, Billing L, Skeffington K, Sewing S, Reimann F, Gribble F. 2015. A transcriptome led exploration of molecular mechanisms regulating somatostatin producing D-cells in the gastric epithelium. Endocrinol 156(11): 3924-36.

Affleck JA, Helliwell PA, Kellett GL. 2003. Immunocytochemical detection of GLUT2 at the rat intestinal brush-border membrane. J Histochem Cytochem 51: 1567–1574.

AFIP: Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América. 1995. Métodos Histotecnológicos. Washington, DC: Publicado por el Registro de Patología de los Estados Unidos de América. 276 p.

Afroze S, Meng F, Jensen K, McDaniel K, Rahal K, Onori P, Gaudio E, Alpini G, Glaser SS. 2013. The physiological roles of secretin and its receptor. Ann Transl Med 1(3): 29.

Agersnap M, Rehfeld JF. 2014. Measurement of nonsulfated cholecystokinins. Scand J Clin Lab Invest 74: 424–431.

Ahlman H, Nilsson O. 2003. The gut as the largest endocrine organ in the body. Ann Oncol 12 (2): S63–S68.

Ait-Omar A, Monteiro-Sepulveda M, Poitou C, Le Gall M, Cotillard A, Gilet J, Garbin K, Houllier A, Château D, Lacombe A, Veyrie N, Hugol D, Tordjman J, Magnan C, Serradas P, Clément K, Leturque A, Brot-Laroche E. 2011. GLUT2 accumulation in enterocyte apical and intracellular membranes: a study in morbidly obese human subjects and ob/ob and high fat-fed mice. Diabetes 60(10): 2598-2607.

Al-Missri MZ, Jialal I. 2019. Physiology, Motilin. In: StatPearls (Internet). Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; Disponible en:
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545309/.

Aleksandersen M, Nicander L, Landsverk T. 1991. Ontogeny, distribution and structure of aggregated lymphoid follicles in the large intestine of sheep. Dev Comp Immunol 15: 413-422.

Alessandri JM, Guesnet P, Arfi TS, Durand G. 1991. Changes in fatty acid composition during cell differentiation in the small intestine of suckling piglets. Biochim Biophys Acta 1086(3): 340-348.

Alexander AN, Carey HV. 2001. Involvement of PI 3-kinase in IGF-I stimulation of jejunal Na^+-k^+-atpase activity and nutrient absorption. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 280: G222–G228.

Allaire JM, Crowley SM, Law HT, Chang SY, Ko HJ, Vallance BA. 2018a. The intestinal epithelium: central coordinator of mucosal immunity. Trends Immunol 39: 677–696.

Allaire JM, Morampudi V, Crowley SM, Stahl M, Yu H, Bhullar K, Knodler LA, Bressler B, Jacobson K, Vallance BA. 2018b. Frontline defenders: goblet cell mediators dictate host-microbe interactions in the intestinal tract during health and disease. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 314: G360–G377.

Alpers DH. 2002. Enteral feeding and gut atrophy. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 5(6): 679-683.

Alumets J, Håkanson R, Sundler F. 1983. Ontogeny of endocrine cells in porcine gut and pancreas. An immunocytochemical study. Gastroenterology 85(6): 1359-1372.

Amat CJ, Planas M, Moreto M. 1996. Kinetics of hexose uptake by the small and large intestine of the chicken. Am J Physiol Regul Integ Comp Physiol 271 (4 Pt 2): R1085- R1089.

Ambort D, Johansson MEV, Gustafsson JK, Nilsson H, Ermund A, Johansson BR, Koeck PJB, Hebert H, Hansson GC. 2012. Calcium and pH-dependent packing and release of the gel-forming MUC2 mucin. Proc Natl Acad Sci USA 109(15): 5645–5650.

Ameghino E, De Martini J. 1991. Mortalidad de crías de alpacas. Boletín de divulgación del Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura (IVITA) UNMSM, Lima, Perú, p: 71-80.

An G, Wei B, Xia B, McDaniel JM, Ju T, Cummings RD, Braun J, Xia L. 2007. Increased susceptibility to colitis and colorectal tumors in mice lacking core 3-derived O-glycans. J Exp Med 204(6): 1417-1429.

Anglas JP, Cueva SM, Vásquez MC, Lira BM, Espinoza JB, Lucas JL, Rodríguez JG. 2012. Identificación y evaluación de transportadores de glucosa SGLT1 y GLUT2 y la incretina Glp-1 en intestino delgado de cuyes (*Cavia porcellus*). Rev Inv Vet Perú 23(4): 399-405.

Anini Y, Fu-Cheng X, Cuber JC, Kervran A, Chariot J, Roz C. 1999. Comparison of the postprandial release of peptide YY and proglucagon-derived peptides in the rat. Pflugers Arch 438(3): 299-306.

André S, Kaltner H, Manning JC, Murphy PV, Gabius HJ. 2015. Lectins: getting familiar with translators of the sugar code. Molecules 20(2): 1788-1823.

Andreu P, Colnot S, Godard C, Gad S, Chafey P, Niwa-Kawakita M, Laurent-Puig P, Kahn A, Robine S, Perret C, Romagnolo B. 2005. Crypt-restricted proliferation and commitment

to the Paneth cell lineage following Apc loss in the mouse intestine. Development 132: 1443–1451.

Ansari B, Coates BD, Greenstein BD, Hall PA. 1993. In situ end labelling detects DNA strand breaks in apoptosis and other physiological and pathological states. J Pathol 170(1): 1-8.

Arnoldini M, Cremer J, Hwa T. 2018. Bacterial growth, flow, and mixing shape human gut microbiota density and composition. Gut Microbes 9(6): 559-566.

Arora T, Akrami R, Pais R, Bergqvist L, Johansson BR, Schwartz TW, Reimann F, Gribble FM, Bäckhed F. 2018. Microbial regulation of the L cell transcriptome. Sci Rep 8(1): 1207

Asari M, Kashiwazaki N, Kawaguchi N, Fukaya K, Kano Y. 1986. Developmental changes in the inner surface structure of the bovine large intestine. Acta Anat (Basel) 127(2): 137-141.

Asari M, Kawaguchi N, Wakui S, Fukaya K, Kano Y. 1987. Development of the bovine ileal mucosa. Acta Anat 129 (4): 315-324.

Asfaha S, Hayakawa Y, Muley A, , Stokes S, Graham TA, Ericksen RE, Westphalen CB, von Burstin J, Mastracci TL, Worthley DL, Guha C, Quante M, Rustgi AK, Wang TC. 2015. Krt19þ/Lgr5- cells are radioresistant cancer-initiating stem cells in the colon and intestine. Cell Stem Cell 16: 627–638.

Assimakopoulos SF, Papageorgiou I, Charonis A. 2011. Enterocytes tight junctions: From molecules to diseases. World J Gastrointest Pathophysiol 2(6): 123-137.

Atkins AM, Schofield GC. 1972. Lymphoglandular complexes in the large intestine of the dog. J Anat 113:169- 178.

Ayabe T, Satchell D, Wilson C, Parks W, Selsted M, Ouellette A. 2000. Secretion of microbicidal defensins by intestinal Paneth cells in response to bacteria. Nat Inmunol 1: 113-118.

Ayabe T, Satchell DP, Pesendorfer P, Tanabe H, Wilson CL, Hagen SJ, Ouellette AJ. 2002. Activation of Paneth cell alfa defensins in mouse small intestine. J Biol Chem 277(7): 5219-5228.

Azwai SM, Abdouslam OE, Al-Bassam LS, Al Dawek AM, Al-Izzi SAL. 2007. Morphological characteristics of blood cells in clinically normal adult llamas (Lama glama). Veterinarski Arhiv 77: 69-79.

Babeu JP, Darsigny M, Lussier CR, Boudreau F. 2009. Hepatocyte nuclear factor 4 alpha contributes to an intestinal epithelial phenotype in vitro and plays a partial role in mouse intestinal epithelium differentiation. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 297 (1): G124-G134.

Bacarese-Hamilton AJ, Adrian TE, Bloom SR. 1984. Human and porcine immunoreactive gastric inhibitory polypeptides (IR-GIP) are not identical. FEBS Lett 168(1): 125-128.

Bach SP, Renehan AG, Potten CS. 2000. Stem cells: the intestinal stem cells as a paradigm. Carcinogenesis 21(3): 469-476.

Baggio LL, Drucker DJ. 2007. Biology of Incretins: GLP-1 and GIP. Gastroenterology 132(6): 2131-2157.

Baintner K. 2002. Vacuolation in the young. In: R. Zabielski, P.C. Gregory, B. Westrom Eds. Biology of the Intestine in Growing Animals. Elsevier, Amsterdam, pp: 55-110.

Baker AM, Cereser B, Melton S, Fletcher AG, Rodriguez-Justo M, Tadrous PJ, Humphries A, Elia G, McDonald SA, Wright NA, Simons BD, Jansen M, Graham TA. 2014. Quantification of crypt and stem cell evolution in the normal and neoplastic human colon. Cell Rep 8: 940-947.

Bakker L, Chen XB, Kyle DJ, Orskov ER, Bourke DA. 1996. Urinary and plasma purine derivatives in fed and fasted llamas (*Lama glama* y *L. guanacoe*). Comp Biochem Physiol 113(2): 367-374.

Balas D, Senegas F, Pradayrol L, Vayssette J, Bertrand C, Ribert A. 1985. Long-term comparative effect of cholecystokinin and gastrin on mouse stomach, antrum, intestine and exocrine pancreas. Am J Anat 174 (1): 27-43.

Banks W. 1996. Histología veterinaria aplicada. 2º ed. Editorial Manual Moderno. 750p.

Barbeito CG, Albarenque SM, Reyna JC, Flamini MA, Laube PF, Badrán AF. 2002. Mitotic activity of the duodenal crypt enterocytes in mice transplanted with EA21 a mammary carcinoma. Cell Biol Int 26(1): 123-125.

Barbeito CG, Gimeno EJ. 2004. Glicobiología, una nueva dimensión para el estudio de la biología y de la patología. An Acad Agron Vet; LVIII, 1-34.

Barbeito C, González N, Badrán A. 2003. Sex and age related temporal variations in intestinal epithelium proliferation in the suckling mouse. Chronobiol Int 20: 37 - 47.

Barbeito CG, Massone AR, Quiroga MA. 2005. Introducción a las técnicas de lectinhistoquímica. Aplicaciones en patología veterinaria. En: Manual del Decimoséptimo Curso Internacional de Posgrado en Técnicas de Inmunohistoquímica, Lectinhistoqiímica y Microscopía Electrónica. Editado por el Instituto de Patología Dr. Bernardo Epstein y el Servicio Central de Microscopía Electrónica Dr. S. I. Itagaki. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata, p 37-51.

Barber DL, Cacace AM, Raucci DT, Ganz MB. 1991. Fatty acids stereospecifically stimulate neurotensin release and increase [Ca2+]i in enteric endocrine cells. Am J Physiol 261(3-1): G497-G503.

Barfull A, Garriga C, Mitjans M, Planas JM. 2002. Ontogenetic expression and regulation of Na (+)-D-glucose cotransporter in jejunum of domestic chicken. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 282 (3): G559-G564.

Barker N. 2014. Adult intestinal stem cells: critical drivers of epithelial homeostasis and regeneration. Nat Rev Mol Cell Biol 15 (1): 19-33.

Barker N, van Es JH, Kuipers J, Kujala P, van den Born M, Cozijnsen M, Haegebarth A, Korving J, Begthel H, Peters PJ, Clevers H. 2007. Identification of stem cells in small intestine and colon by marker gene Lgr5. Nature 449: 1003–1007.

Barnich, N. Carvalho FA, Glasser AL, Darcha C, Jantscheff P, Allez M, Peeters H, Bommelaer G, Desreumaux P, Colombel JF, Darfeuille-Michaud A. 2007. CEACAM6 acts as a receptor for adherent-invasive E. coli, supporting ileal mucosa colonization in Crohn disease. J Clin Invest 117: 1566–1574.

Barresi G, Tuccari G, Tedeschi A, Magazzù G. 1988. Lectin binding sites in duodeno-jejunal mucosae from coeliac children. Histochem 88(2): 105-112.

Barszcz M, Skomial J. 2011. The development of the small intestine of piglets – chosen aspects. J Anim Feed Sci 20: 3-15.

Bartman AE, Buisine MP, Aubert JP, Niehans GA, Toribara NW, Kim YS, Kelly EJ, Crabtree JE, Ho SB. 1998. The MUC6 secretory mucin gene is expressed in a wide variety of epithelial tissues. J Pathol 186 (4): 398-405.

Basak O, van de Born M, Korving J, Beumer J, van der Elst S, van Es JH, Clevers H. 2014. Mapping early fate determination in Lgr5+ crypt stem cells using a novel Ki67-RFP allele. EMBO J 33(18): 2057-2068.

Bates MD, Dunagan DT, Welch LC, Kaul A, Harvey RP. 2006. The Hlx homeobox transcription factor is required early in enteric nervous system development. BMC Develop Biol 6: 33.

Batlle E, Henderson JT, Beghtel H, van den Born M.MW, Sancho E, Huls G, Meeldijk J, Robertson J, van deWetering M, Pawson T, Clevers H. 2002. Beta-catenin and TCF mediate cell positioning in the intestinal epithelium by controlling the expression of EphB/EphrinB. Cell 111(2): 251–263.

Bayley DS, Cook A, McAllister G, Moss M, Mian N. 1984. Structural and biochemical differentiation of the mammalian small intestine during foetal development. J Cell Sci 72: 195-212.

Beaulieu JF, Vachon PH, Chartrand S. 1991. Immunolocalization of extracellular matrix components during organogenesis in the human small intestine. Anat Embryol 183: 363-369.

Begg DP, Woods SC. 2013. The endocrinology of food intake. Nat Rev Endocrinol 9: 584–597.

Beglinger C, Degen L. 2004. Fat in the intestine as a regulator of appetite-role of CCK. Physiol Behav 83: 617–621.

Behnke O, Moe H. 1964. An electron microscope study of mature and differentiating Paneth cells in the rat, especially of their endoplasmic reticulum and lysosomes. J Cell Biol 22: 633-652.

Belaguli NS, Zhang M, Rigi M, Aftab M, Berger DH. 2007. Cooperation between GATA4 and TGF-beta signaling regulates intestinal epithelial gene expresión. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 292(6): 1520-1533.

Belley A, Keller K, Gottke M, Chadee K, Goettke M. 1999. Intestinal mucins in colonization and host defense against pathogens. Am J Trop Med Hyg 60: 10–15.

Belli S. 2009. Marcadores biológicos en TNE-GEP: 5HIAA, Cromogranina sérica, Catecolaminas. Acta Gastroenterol Latin 39: 19-25.

Bello A, Onyeanusi BI, Sonfada ML, Adeyanju JB, Umaru MA. 2012. A biometric study of the digestive tract of one-humped camel (Camelus dromedarius) fetuses. Sci J Zool 1(1): 11–16.

Benjamin JL, Sumpter R, Levine B, Hooper LV. 2013. Intestinal epitelial autophagy is essential for host defense against invasive bacteria. Cell Host Microbe 13: 723–734.

Behnke O, Moe H. 1964. An electron microscope study of mature and differentiating paneth cells in the rat, especially of their endoplasmic reticulum and lysosomes. J Cell Biol 22 (3): 633–652.

Bevins C, Salzman N. 2011. Paneth cells, antimicrobial peptides and maintenance of intestinal homeostasis. Nat Rev Microbiol 9: 356-368.

Bevins CL. 2004. Paneth cell and the innate immune response. Current Opinion in Gastroenterol 20: 572-580.

Bevins CL. 2005. Events at the host-microbial interface of the gastrointestinal tract. V. Paneth cell alpha-defensins in intestinal host defense. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 289(2): 173-176.

Bevins, CL. 2006. Paneth cell defensins: key effector molecules of innate immunity. Biochem Soc Trans 34: 263-266.

Beyaz F, Asti RN. 2004. Development of ileal Peyer`s patches and follicle associated epithelium in bovine foetuses. Anat Histol Embryol 33(3): 172-179.

Biol-N'garagba MC, Louisot P. 2003. Regulation of the intestinal glycoprotein glycosylation during postnatal development: role of hormonal and nutritional factors. Biochimie 85: 331-352.

Bisaillon M, Senechal S, Bernier L, Lemay G. 1999. A glycosyl hydrolase activity of mammalian reovirus sigma1 protein can contribute to viral infection through a mucus layer. J Mol Biol 286: 759–773.

Birchenough GM, Johansson ME, Gustafsson JK, Bergström JH, Hansson GC. 2015. New developments in goblet cell mucus secretion and function. Mucosal Immunol 8(4): 712-719.

Biswal G, Morrill CC, Dorstewitz EL. 1954. Glands in the submucosa of the porcine colon. Cornell Vet 44: 93-102.

Bjerknes M, Cheng H. 1981. The stem-cell zone of the small intestinal epithelium. I. Evidence from Paneth cells in the adult mouse. Am J Anat 160: 51- 63.

Bjerknes M, Cheng H. 2005. Gastrointestinal stem cells. II. Intestinal stem cells. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 289: G381–G387.

Blache P, van de Wetering M, Duluc I, Domon C, Berta P, Freund J-N, Clevers H, Jay P. 2004. SOX9 is an intestine crypt transcription factor, is regulated by the Wnt pathway, and represses the CDX2 and MUC2 genes. J Cell Biol 166(1): 37-47.

Blackburn AM, Bloom SR, Edwards AV. 1981. Pancreatic endocrine responses to exogenous neurotensin in the conscious calf. J Physiol 314(1): 11–21.

Bland PW, Britton DC. 1984. Morphological study of antigen-sampling structures in the rat large intestine. Infect Immun 43: 693-699.

Bligh J, Sumar J. 1988. Patrones de temperatura corporal en camélidos sudamericanos. Revista de camélidos sudamericanos 6: 37-39.

Bogunovic M, Davé SH, Tilstra JS, Chang DT, Harpaz N, Xiong H, Mayer LF, Plevy SE. 2007. Enteroendocrine cells express functional Toll-like receptors. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 292(6): 1770-1783.

Bohe M, Borgstrum A, Lindstrom C, Ohlsson K. 1984. Pepsin-like immunoreactivity in human Paneth Cells. Digestive 30: 271-275.

Bohin N, Keeley TM, Carulli AJ, Walker EM, Carlson EA, Gao J, Aifantis L, Siebel CW, Rajala MW, Myers Jr. MG, Jones JC, Brindley CD, Dempsey PJ, Samuelson LC. 2020. Rapid Crypt cell remodeling regenerates the intestinal stem cell niche after Notch inhibition. Stem Cell Reports 15 (1): 156-170.

Bonacic C. 1991. Características biológicas y productivas de los camélidos sudamericanos. Avances en Ciencias Veterinarias 6(2). Disponible en: https://avancesveterinaria.uchile.cl/index.php/ACV/article/view/4642

Boonzaier J, Van der Merwe EL, Bennett NC, Kotzé SH. 2013. A comparative histochemical study of the distribution of mucins in the gastrointestinal tracts of three insectivorous mammals. Acta Histochem 115(6): 549-556.

Bosse T, Piaseckyj CM, Burghard E, Fialkovich JJ, Rajagopal S, Pu WT, Krasinski SD. 2006. Gata4 is essential for the maintenance of jejunal-ileal identities in the adult mouse small intestine. Mol Cell Biol 26: 9060–9070.

Bradbury P, Gordon KC. 1990. Connective tissues and stains. In: Bancroft JD, Stevens A, editors. Theory and practice of histological techniques. Third edition. London, United Kingdom, Livingston Churchill. p 119–142.

Bravo PW. 2002. The reproductive process of South American camelids. Seagull Printing, Salt Lake City, UT, USA. 100p.

Bravo W. 2015. Neonatología de la cría de alpaca, aspectos clínicos e inmunitarios. En: Libro virtual del VII Congreso Mundial en Camélidos Sudamericanos. 7ma Edición. Editorial Corporacion MERU. Puno, Perú.

Bravo JC, Correa P. 1999. Sulphomucins favour adhesion of Helicobacter pylori to metaplastic gastric mucosa. J Clin Pathol 52: 137–140.

Bravo PW, Mayta MM, Ordoñez CA. 2000. Growth of the conceptus in alpacas. Am J Vet Res 61(12): 1508-1511.

Bravo PW, Stabenfeldt GH, Lasley BL, Fowler ME. 1991. The effect of ovarian follicle size on pituitary and ovarian responses to copulation in domesticated South American camelids. Biol Reprod 45(4): 553–559.

Brittan M, Wright NA. 2004. Stem cell in gastrointestinal structure and neoplastic development. Gut 53(6): 899-910.

Bröer S. 2008. Amino acid transport across mammalian intestinal and renal epithelia. Physiol Rev 88(1): 249–286.

Bröer A, Juelich T, Vanslambrouck JM, Tietze N, Solomon PS, Holst J, Bailey CG, Rasko JE, Bröer S. 2011. Impaired nutrient signaling and body weight control in a Na+ neutral amino acid cotransporter (SLC6A19)-deficient mouse. J Biol Chem 286: 26638–26651.

Bröer A, Klingel K, Kowalczuk S, Rasko J E, Cavanaugh J, Bröer S. 2004. Molecular cloning of mouse amino acid transport system B0, a neutral amino acid transporter related to Hartnup disorder. J Biol Chem 279: 24467–24476.

Brooks SA. 2017. Lectin histochemistry: Historical perspectives, State of the Art, and the Future. Methods Mol Biol 1560: 93-107.

Brown PJ, Poulsen SS, Wells M. 1991. Serine protease immunohistochemistry and lectin histochemistry in the small intestine of weaned and unweaned pigs. Res Vet Sci 50(1): 1-5.

Brubaker PL. 2012. A beautiful cell (or two or three?). Endocrinol 153 (7): 2945-2948.

Bruce-Gregorios JH. 2006. Histopathological Techniques. 2nd ed. Quezoncity: Good Will Trading, INC. 165p.

Bry L, Falk P, Huttner K, Oullette A, Midtvedt T, Gordon JI. 1994. Paneth cell differentiation in the developing intestine of normal and transgenic mice. Proc Natl Acad Sci USA 91(22): 10335-10339.

Bry L, Falk PG, Midtvedt T, Gordon JI. 1996. A model of host-microbial interactions in an open mammalian ecosystem. Science (New York, NY) 273: 1380–1383.

Buchan AM, Polak JM, Capella C, Solcia E, Pearse AG. 1978. Electronimmunocytochemical evidence for the K cell localization of gastric inhibitory polypeptide (GIP) in man. Histochem 56(1): 37-44.

Buchan AM, Polak JM, Solcia E, Capella C, Hudson D, Pearse AG. 1978. Electron immunohistochemical evidence for the human intestinal I cell as the source of CCK. Gut 19(5): 403-407.

Buchmiller TL, Fonkalsrud EW, Kim CS, Chopourian HL, Shaw KS, Lam MM, Diamond JM. 1992. Upregulation of nutrient transport in fetal rabbit intestine by transamniotic substrate administration. J Surg Res 52 (5): 443-447.

Buddington RK. 1994. Nutrition and ontogenetic development of the intestine. Can J Physiol Pharmacol 72 (3): 251-259.

Buddington RK, Malo C. 1996. Intestinal brush-border membrane enzyme activities and transport functions during prenatal development of pigs. J Pediatr Gastroenterol Nutr 23 (1): 51-64.

Buddington RK, Sangild PT. 2011. Development of the mammalian gastrointestinal tract, the resident microbiota, and the role of diet in early life. J Anat Sci 89: 1506–1519.

Buddington RK, Elnif J, Puchal-Gardiner AA, Sangild PT. 2001. Intestinal apical amino acid absorption during development of the pig. Am J Physiol Regul Comp Integr Physiol 280 (1): R241–R247.

Buendía AJ, Durán ME, Gásquez A, Gómez S, Méndez A, Navarro JA. 2004. Aparato Digestivo. En: Gásquez y Blanco Edit. Tratado de Histología Veterinaria. España. Masson DL. p 239-280.

Bueno L, Fioramonti J. 2008. Protease-activated receptor 2 and gut permeability: a review. Neurogastroenterol Motil 20: 580–587.

Buffa R, Capella C, Fontana P, Usellini L, Solcia E. 1978. Types of endocrine cells in the human colon and rectum. Cell Tissue Res 192 (2): 227-240.

Buhay TA. 2006. Effects of protein source and fat level on performance, growth of the pancreas, stomach and small intestine, and on pancreatic enzyme activity and gene expression in early-weaned pigs. Tesis grado de Doctor of Philosophy. Oklahoma: Faculty of the Graduate College of the Oklahoma State University. 287p

Buisine MP, Devisme L, Maunoury V, Deschodt E, Gosselin B, Copin MC, Aubert JP, Porchet N. 2000. Developmental mucin gene expression in the gastroduodenal tract and accessory digestive glands. I. Stomach. A relationship to gastric carcinoma. J Histochem Cytochem 48(12): 1657-1666.

Burton S, Robinson TF, Roeder BL, Johnston NP, Latorre EV, Reyes SB, Schaajle B. 2003. Body condition and blood metabolite characterization of alpaca (*Lama pacos*) three months prepartum and offspring three monsths postpartum. Small Rum Res 48: 69-76.

Bustinza V. 2001. La alpaca, conocimiento de gran potencial andino. Libro 1. Oficina de Recursos de Aprendizaje, Universidad Nacional del Altiplano – Puno, 496 p.

Buts JP, De Meyer R. 1981. Postnatal proximodistal development of the small bowell mucosal mass in growing rats. Biol Neonate 40: 62-69.

Byrd JC, Yunker CK, Xu QS, Sternberg LR, Bresalier RS. 2000. Inhibition of gastric mucin synthesis by Helicobacter pylori. Gastroenterol 118: 1072–1079.

Cabezas O, Giannetto A, Merino M, Piccione. 2007. Seasonal variation of serum urea concentration in alpacas (*Lama pacos*) housed at three different altitudes. Arch Vet Ital 58(1): 1-6.

Cabrera A. 1932. Sobre los camélidos fósiles y actuales de la América Austral. Rev Mus La Plata 33: 89-117.

Cadwell K, Liu JY, Brown SL, Miyoshi H, Loh J, Lennerz JK, Kishi C, Kc W, Carrero JA, Hunt S, Stone CD, Brunt EM, Xavier RJ, Sleckman BP, Li E, Mizushima N, Stappenbeck TS, Virgin HW 4th. 2008. A key role for autophagy and the autophagy gene Atg16l1 in mouse and human intestinal Paneth cells. Nature 456(7219): 259–263.

Calderon AD, Liu Y, Li X, Wang X, Chen X, Li L, Wang PG. 2016. Substrate specificity of FUT8 and chemoenzymatic synthesis of core-fucosylated asymmetric N-glycans. Org Biomol Chem 14(17): 4027-4031.

Calvert R, Pothier P. 1990. Migration of fetal intestinal intervillous cells in neonatal mice. Anat Rec 227: 199-206.

Camilleri M, Madsen K, Spiller R, Greenwood-Van Meerveld B, Verne Gn. 2012. Intestinal barrier function in health and gastrointestinal disease. Neurogastroenterol Motil 24(6): 503–512.

Campbell JE, Drucker DJ. 2013. Pharmacology, physiology, and mechanisms of incretin hormone action. Cell Metab 17: 819-837.

Campbell I. 2015. Gut motility and its control. Anaest Int Care Med 16(1): 40-42.

Cani PD, Neyrinck AM, Fava F. Knauf C, Burcelin RG, Tuohy KM, Gibson GR, Delzenne NM. 2007. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. Diabetologia 50: 2374–2383.

Carlens 0. 1928. Studien iiber das lymphatische Gewebe des Darmkanals bei einigen Haustieren, mit besonderer Beriicksichtigung der embryonalen Entwicklung, der Mengenverhaltnisse und der Altersinvolution dieses Gewebes im Diinndarm des Rindes. Z Anat Entwicklungsgesch 86: 393-493.

Cassano G, Stieger B, Murer H. 1984. Na/H- and Cl/OH- exchange in rat jejunal and rat proximal tubular brush border membrane vesicles. Studies with acridine orange. Pflugers Arch 400: 309- 317.

Castagliuolo I, Wang CC, Valenick L, Pasha A, Nikulasson S, Carraway RE, Pothoulakis C. 1999. Neurotensin is a proinflammatory neuropeptide in colonic inflammation. J Clin Inv 103(6): 843-849.

Castell DO, Moore EW. 1971. Ammonia absorption from the human colon. The role of nonionic diffusion. Gastroenterol 60: 33-42.

Castellano VM, Sotelo T, Ballestin C, López-Encuentra A, Varela G. 1996. Analysis of proliferting cell nuclear antigen expression in 24 cases of primary non-small cell lung cáncer and correlation with survival. Archiv Bronconeumol 32 (3): 127-131.

Ceccarelli P, Pedini V, Gargiulo AM. 1991. Enteroendocrine cells in sheep fetuses. Small Rum Res 6(1-2): 85-93.

Cellini C, Xu J, Buchmiller-Crair T. 2005. Effect of epidermal growth factor on small intestinal sodium/glucose cotransporter-1 expression in a rabbit model of intrauterine growth retardation. J Pediatr Surg 40 (12): 1892-1897.

Cervantes S, Yamaguchi TP, Hebrok M. 2009. Wnt5a is essential for intestinal elongation in mice. Dev Biol 326 (2): 285-294.

Chadee K, Johnson ML, Orozco E, Petri WA Jr, Ravdin JI. ***1988.*** Internalization of rat colonic mucins by the galactose/N-acetyl-D-galactosamine adherence lectin of Entamoeba histolytica. J Infect Dis 158 (2): 398-406.

Chadee K, Petri WA Jr, Innes DJ, Ravdin JI. 1987. Rat and human colonic mucins bind to and inhibit adherence lectin of Entamoeba histolytica. J Clin Invest 80 (5): 1245-1254.

Chae C, Lee YS. 1995. Age-related lectin histochemical changes in the porcine small intestine. J Vet Med Sci 57(5): 883-889.

Chao C, Hellmich MR. 2012. Gastrointestinal hormones: gastrin, cholecystokinin, somatostatin and ghrelin. In: Johnson LR Edit, Physiology of the gastrointestinal tract. Academic, London, p 115-154.

Chapman HA, Johnson JS, Cooper MD. 1974. Ontogeny of Peyer's patches and immunoglobulin-containing cells in pigs. J Immunol 112(2): 555-563.

Chaudhry RM, Scow JS, Madhavan S, Duenes JA, Sarr MG. 2012. Acute enterocyte adaptation to luminal glucose: A posttranslational mechanism for rapid apical recruitment of the transporter GLUT2. J Gastrointest Surg 16: 312–319.

Checcnes N. 2014. Morfometría de la mucosa del intestino delgado de crías de alpacas (vicguna pacos). Tesis para optar el título de médico veterinario. 74p.

Cheeseman CI. 1993. GLUT2 is the transporter for fructose across the rat intestinal basolateral membrane. Gastroenterol 105(4): 1050-1056.

Chen I, Lui F. 2019. Physiology, Active Transport. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547718/

Chen M, Singh A, Xiao F, Dringenberg U, Wang J, Engelhardt R, Yeruva S, Rubio-Aliaga I, Nässl AM, Kottra G, Daniel H, Seidler U. 2010. Gene ablation for PEPT1 in mice abolishes the effects of dipeptides on small intestinal fluid absorption, short-circuit current, and intracellular pH. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 299(1): G265-G274.

Chen F, Zhang S, Deng Z, Zhou Q, Cheng L, Kim SW, Chen J, Guan W. 2018. Regulation of amino acid transporters in the mammary gland from late pregnancy to peak lactation in the sow. J Anim Sci Biotechnol 9: 35.

Chen L, Toke NH, Luo S, Vasoya RP, Fullem RL, Parthasarathy A, Perekatt AO, Verzi MP. 2019. A reinforcing HNF4-SMAD4 feed forward module stabilizes enterocyte identity. Nat Genet 51: 777–785.

Cheng H, Merzel J, Leblond CP. 1969. Renewal of Paneth cells in the small intestine of the mouse. Am J Anat 126: 507-526.

Cheng H, Leblond CP. 1974. Origin, differentiation and renewal of the four main epithelial cell types in the mouse small intestine. I. Columnar cell. Am J Anat 141: 461-479.

Chessa D, Winter MG, Jakomin M, Bäumler AJ. 2009. Salmonella enterica serotype Typhimurium Std fimbriae bind terminal alpha (1,2)fucose residues in the cecal mucosa. Mol Microbiol 71(4): 864-875.

Chimerel C, Emery E, Summers DK, Keyser U, Gribble FM, Reimann F. 2014. Bacterial metabolite indole modulates incretin secretion from intestinal enteroendocrine L cells. Cell Rep 9(4): 1202-1208.

Chin AM, Hill DR, Aurora M, Spence JR. 2017. Morphogenesis and maduration of the embryonic and postnatal intestine. Sem cell develop biol 66: 81-93.

Cho H-J, Callaghan B, Bron R, Bravo DM, Furness JB. 2014. Identification of enteroendocrine cells that express TRPA1 channels in the mouse intestine. Cell Tissue Res 356: 77–82.

Cho I, Yamanishi S, Cox L, Methé BA, Zavadil J, Li K, Gao Z, Mahana D, Raju K, Teitler I, Li H, Alekseyenko AV, Blaser MJ. 2012. Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity. Nature 488: 621–626.

Choi BY, Sohn YS, Choi C, Chae C. 2003. Lectin histochemistry for glycoconjugates in the small intestines of piglets naturally infected with *Isospora suis*. J Vet Med Sci 65 (3): 389-392.

Choi M S, Graves MJ, Matoo S, Storad Z A, El Sheikh Idris R A, Weck M L, Smith ZB, Tyska MJ, Crawley SW. 2020. The small EF-hand protein CALML4 functions as a critical myosin light chain within the intermicrovillar adhesion complex. J Biol Chem 295(28): 9281-9296.

Chow BK. 1995. Molecular cloning and functional characterization of a human secretin receptor. Biochem Biophys Res Commun 212(1): 204-211.

Christensen J. 1991. Gross and microscopic anatomy of the large intestine. In The Large Intestine: Physiology, pathophysiology, and disease. Edited bye S.F. Phillips J.H. Pemberton and R.G.Shorter, Mayor Foundation. Published bye Raven Press, Ltd New York, pp 13-26.

Christensen M, Vedtofte L, Holst JJ, Vilsboll T, Knop FK. 2011. Glucose-dependent insulinotropic polypeptide: a bifunctional glucose-dependent regulator of glucagon and insulin secretion in humans. Diabetes 60: 3103-3109

Christodoulopoulos JB, Jacobs WH, klotz AP. 1961. Action of secretin on pancreatic secretion. Am J Physiol 201: 1020-1024.

Ciro-Galeano JA, López AH, Parra JS. 2016. The probiotic *Enterococcus faecium* modifies the intestinal morphometric parameters in weaning piglets. Rev Fac Nac Agron 69 (1): 7803-7811.

Clausen MV, Hilbers F, Poulsen H. 2017. The structure and function of the Na, K-ATPase isoforms in health and disease. Front Physiol 8: 371.

Clayburgh DR, Shen L, Turner JR. 2004. A porous defense: the leaky epithelial barrier in intestinal disease. Lab Invest 84: 282–291.

Clevers H. 2013. The intestinal crypt, a prototype stem cell compartment. Cell 154(2): 274-284.

Clevers H, Nusse R. 2012. Wnt/β-Catenin signaling and disease. Cell 149 (6): 1192-1205.

Clevers H, Nusse R. 2017. Wnt/β-Catenin signaling, disease, and emerging therapeutic modalities. Cell 169 (6): 985-999.

Clevers HC, Bevins CL. 2013. Paneth cells: maestros of the small intestinal crypts. Annu Rev Physiol 75: 289–311.

Cobo ER, Campero CM, Gimeno EJ, Barbeito CG. 2004. Lectin binding pattern and immunohistochemical and antigen detection in the genitalia of Tricomona foetus-infested heifers. J Comp Pathol 131: 127-132.

Colony PC, Specian RD. 1987. Endocytosis and vesicular traffic in fetal and adult colonic goblet cells. Anat Rec 218 (4): 365–372.

Conway KL, Kuballa P, Song JH, Patel KK, Castoreno AB, Yilmaz OH, Jijon BH, Zhang M, Aldrich LN, Villablanca EJ, Peloquin JM, Goel G, Lee IA, Mizoguchi E, Shi HN, Bhan AK, Shaw SY, Schreiber SL, Virgin HW, Shamji AF, Stappenbeck TS, Reinecker HC, Xavier RJ. 2013. Atg16l1 is required for autophagy in intestinal epithelial cells and protection of mice from salmonella infection. Gastroenterol 145: 1347–1357.

Cook HC. 1990. Carbohydrates. In: Bancroft JD and Stevens A (Ed.), Theory and Practice of Histological Techniques, Churchill Livingstone, New York, p 177-213

Cooper HS, Farano P, Copman RA. 1987. Peanut lectin binding sites in colon of patients with ulcerative colitis. Arch Pathol Lab Med 111: 270 - 275.

Copaira M. 1952. Estudios Hematológicos en auquénidos. Anales de la Facultad de Medicina 35 (4): 515-531.

Corfield AP. 2015. Mucins: a biologically relevant glycan barrier in mucosal protection. Biochim Biophys Acta 1850(1): 236-252.

Coyne MJ, Reinap B, Lee MM, Comstock LE. 2005. Human symbionts use a host-like pathway for surface fucosylation. Science 307(5716): 1778-1781

Crawley S W, Weck M L, Grega-Larson N E, Shifrin D A Jr, Tyska M J. 2016. ANKS4B is essential for intermicrovillar adhesion complex formation. Dev Cell 36: 190-200.

Creamer B, Shorter R, Bamforth J. 1961. The turnover and shedding of epithelial cells. I. The turnover in the gastro-intestinal tract. Gut 2: 110.

Creutzfeldt W. 1979. The incretin concept today. Diabetol 16(2): 75-85.

Cristina ML, Lehy T, Zeitoun P, Dufougeray F. 1978. Fine structural classification and comparative distribution of endocrine cells in normal human large intestine. Gastroenterol 75(1): 20-28

Christofides ND, Bloom SR, Besterman HS, Adrian TE, Ghatei MA. 1979. Release of motilin by oral and intravenous nutrients in man. Gut 20(2): 102-106.

Crosnier C, Stamataki D, Lewis J. 2006. Organizing cell renewal in the intestine: stem cells, signals and combinatorial control. Nat Rev Genet 7(5): 349–359.

Cuber JC, Laplace JP, Chayvialle JA. 1984. Motilin and Myoelectric Complexes in the Pig. En: Roman C. Edit, Gastrointestinal Motility. Springer, Dordrecht. p 231-237.

Cummings JH, Pomare EW, Branch WJ, Naylor CP, Macfarlane GT. 1987. Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. Gut 28(10): 1221-1227.

Cummins AG, Thompson FM. 2002. Effect of breast milk and weaning on epithelial growth of the small intestine in humans. Gut 51(5): 748-754.

Cunningham J. 2005. Fisiología Veterinaria. 3ra Ed. Editorial Elsevier, España. 624p.

D'Alessio D, Lu WJ, Sun W, Zheng S, Yan Q, Seeley R, Woods SC, Tso P. 2007. Fasting and postprandial concentrations of glucagon-like peptide-1 in intestinal lymph and portal

plasma: Evidence for selective release of GLP-1 into the lymph system. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 293: 2163-2169.

Danguy A, Decaestecker C, Genten F, Salmon I, Kiss R. 1998. Aplications of lectins and neoglycoconjugates in histology and pathology. Acta Anat 161: 206-218.

Daniel EE. 1990. Neuropeptide function in the gastrointestinal tract. 1ra. Edición. CRC Press. 510p.

Daniel H, Kottra G. 2004. The proton oligopeptide cotransporter family SLC15 in physiology and pharmacology. Pflugers Arch 447: 610-618.

Danisi G, Murer H, Straub RW. 1984. Effect of pH on phosphate transport into intestinal brush-border membrane vesicles. Am J Physiol 246: G180-G186

Danielsen EM, Hansen GH. 2006. Lipid raft organization and function in brush borders of epithelial cells. Mol Membr Biol 23(1): 71–79.

Dao DPD, Le PH. 2020. Histology, Goblet Cells. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK553208/

Darwich AS, Aslam U, Ashcroft DM, Rostami-Hodjegan A. 2014. Meta-analysis of the turnover of intestinal epithelia in preclinical animal species and humans. Drug Metab Dispos 42 (12): 2016-2022

Dave MH, Schulz N, Zecevic M, Wagner CA, Verrey F. 2004. Expression of heteromeric amino acid transporters along the murine intestine. J Physiol 558: 597-610.

Davies HL, Robinson TF, Roeder BL, Sharp ME, Johnston NP, Christensen AC, Schaalje GB. 2007. Digestibility, nitrogen balance, and blood metabolites in llama (*Lama glama*) and alpaca (*Lama pacos*) fed barley or barley alfalfa diets. Small Rumin Res 73: 1-7.

Davis H, Irshad S, Bansal M, Rafferty H, Boitsova T, Bardella C, Jaeger E, Lewis A, Freeman-Mills L, Giner FC, Rodenas-Cuadrado P, Mallappa S, Clark S, Thomas H, Jeffery R, Poulsom R, Rodriguez-Justo M, Novelli M, Chetty R, Silver A, Sansom OJ, Greten FR, Wang LM, East JE, Tomlinson I, Leedham SJ. 2015. Aberrant epitelial GREM1 expression initiates colonic tumorigenesis from cells outside the stem cell niche. Nat Med 21: 62–70.

De la Torre R. 2006. Estudio de la regulación de la expresión de genes epiteliales intestinales en respuesta a los fenómenos de diferenciación y apoptosis. Tesis doctoral. Universidad de Granada, España. 227 p.

De la Vega E. 1952. Aspectos histológicos del aparato digestivo de la alpaca. Anales de la Facultad de Medicina 35(4): 490-514.

de Lau W, Barker N, Low TY, Koo BK, Li VS, Teunissen H, Kujala P, Haegebarth A, Peters PJ, van de Wetering M, Stange D E, van Es J, Guardavaccaro D, Schasfoort RBM, Mohri Y, Nishimori K, Mohammed S, Heck AJR, Clevers H. 2011. Lgr5 homologues associate with Wnt receptors and mediate R-spondin signaling. Nature 476: 293–297.

De Robertis EMF. 2003. Biología Celular y Molecular. 12 Edición. Ed. El Ateneo. Argentina. 469p.

De Santa Bárbara P, Van den Brink G, Roberts D. 2003. Development and differentiation of the intestinal epithelium. Cell Mol Life Sci 60 (7): 1322-1332.

Deacon CF, Ahrén B. 2011. Physiology of incretins in health and disease. Rev Diabet Stud 8(3): 293-306.

Deacon CF, Johnson AH, Holst JJ. 1995. Human colon produces fully processed glucagon-like peptide 1 (7–36) amide. FEBS Letters 372: 269-272.

Deckx RJ, Vantrappen GR, Parein MM. 1967. Localization of lysozyme in a Paneth cell granule fraction. Biochem Biophys Act 139: 204-207.

Deglincerti A, Croft GF, Pietila LN, Zernicka-Goetz M, Siggia ED, Brivanlou AH. 2016. Self-organization of the in vitro attached human embryo. Nature 533: 251–254.

Dekaney CM, Bazer FW, Jaeger LA. 1997. Mucosal morphogenersis and cytodifferentiation in fetal porcine small intestine. Anat Rec 249(4): 517-523.

Del Campo MR., Del Campo CH., Adams GP, Mapletoft RJ. 1995. The application of new reproductive technologies to south American camelids. Theriogenol 43: 21 – 30

den Besten G, van Eunen K, Groen AK, Venema K, Reijngoud DJ, Bakker BM. 2013. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. J Lipid Res 54(9): 2325–2340

Deplancke B, Gaskins HR. 2001. Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer. Am J Clin Nutr 73 (6): 1131S-1141S.

Desai MS, Seekatz AM, Koropatkin NM, Kamada N, Hickey CA, Wolter M, Pudlo NA, Kitamoto S, Terrapon N, Muller A, Young VB, Henrissat B, Wilmes P, Stappenbeck TS, Núñez G, Martens EC. 2016. A dietary fiber-deprived gut microbiota degrades the colonic mucus barrier and enhances pathogen susceptility. Cell 167: 1339-1353.

Dignass A, Lynch-Devaney K, Kindon H, Thim L, Podolsky DK. 1994. Trefoil peptides promote epithelial migration through a transforming growth factor b-independent pathway. J Clin Invest 94: 376–383.

Doehrn S, Reipohl W, Lierse W, Romarnuk K, Young W. 1992. Developmental Changes in the Distribution of Cecal Lectin-Binding Sites of Balb-c Mice. Acta anat 145: 296-301.

Donati G, Watt FM. 2015. Stem cell heterogeneity and plasticity in epithelia. Cell Stem Cell 16: 465–476.

Douard V, Ferraris RP. 2013. The role of fructose transporters in diseases linked to excessive fructose intake. J Physiol 591: 401-414.

Doughri AM, Altera KP, Kainer RA. 1972. Some developmental aspects of the bovine fetal gut. Zentralbl Veterinarmed A 19(5): 417-434.

Drewe J, Mihailovic S, D'Amato M, Beglinger C. 2008. Regulation of fat stimulated neurotensin secretion in healthy subjects. J Clin Endocrinol Metab 93(5): 1964-1970.

Driehuis E, Clevers H. 2017. WNT signalling events near the cell membrane and their pharmacological targeting for the treatment of cancer. Br J Pharmacol 174: 4547–4563.

Drozdowski L, Thomson A. 2006a. Intestinal sugar transport. World J Gastro 12: 1657-1670.

Drozdowski L, Thomson A. 2006b. Intestinal mucosal adaptation. World J Gastroenterol 12(29): 4614-4627.

Drozdowski LA, Thomson AB. 2009. Intestinal hormones and growth factors: Effects on the small intestine. World J Gastroenterol 15(4): 385-406.

Drozdowski LA, Clandinin T, Thomson AB. 2010. Ontogeny, growth and development of the small intestine: Understanding pediatric gastroenterology. World J Gastroenterol 16(7): 787-799.

Drucker DJ. 2006. The biology of incretin hormones. Cell Metab 3: 153-165.

Dube DH, Bertozzi CR. 2005. Glycans in cancer and inflammation. Potential for therapeutics and diagnostics. Nat Rev Drug Discov 4: 477-488.

Dube PE, Forse CL, Bahrami J, Brubaker PL. 2006. The essential role of insulin-like growth factor-1 in the intestinal tropic effects of glucagon-like peptide-2 in mice. Gastroenterol 131: 589–605.

Dubois PM, Paulin C, Chayvialle JA. 1976. Identification of gastrin-secreting cells and cholecystokinin-secreting cells in the gastrointestinal tract of the human fetus and adult man. Cell Tissue Res 175(3): 351-356.

Duncan SH, Louis P, Thomson JM, Flint HJ. 2009. The role of pH in determining the species composition of the human colonic microbiota. Environ Microbiol 11(8): 2112-2122.

Duncan SA, Manova K, Chen WS, Hoodless P, Weinstein DC, Bachvarova RF, Darnell JE Jr. 1994. Expression of transcription factor HNF-4 in the extraembryonic endoderm, gut, and nephrogenic tissue of the developing mouse embryo: HNF-4 is a marker for primary endoderm in the implanting blastocyst. Proc Natl Acad Sci USA 91 (16): 7598-7602.

Dunn JS. 1967. The fine structure of the absorptive epithelial cells of the developing small intestine of the rat. J Anat 7: 101 (1): 57–68.

Dunning BE, Gerich JE. 2007. The role of alpha-cell dysregulation in fasting and postprandial hyperglycemia in type 2 diabetes and therapeutic implications. Endocr Rev 28: 253- 283.

Durand A, Donahue B, Peignon G, Letoumeur F, Cagnard N, Slomianny C, Perret C, Shroyer NF, Romagnolo B. 2012. Functional intestinal stem cells after Paneth cell ablation induced by the loss of transcription factor Math1 (Atoh1). Proc Natl Acad Sci USA 109: 8965–8970.

Dutta AK, Sahu MK, Gangadharan SK, Chacko A. 2011. Distinguishing Crohn's disease from intestinal tuberculosis- a prospective study. Trop Gastroenterol 3(3): 204-209.

Ebert K, Ewers M, Bisha I, Sander S, Rasputniac T, Daniel H, Antes I, Witt H. 2018. Identification of essential amino acids for glucose transporter 5 (GLUT5)-mediated fructose transport. J Biol Chem 293(6): 2115-2124.

Eckmann L. 2005. Defense molecules in intestinal innate immunity against bacterial infections. Curr Opin Gastroenterol 21: 147-151.

Egerod KL, Engelstoft MS, Grunddal KV, Nohr MK, Secher A, Sakata I, Pedersen J, Windeløv JA, Füchtbauer EM, Olsen J, Sundler F, Christensen JP, Wierup N, Olsen JV, Holst JJ, Zigman JM, Poulsen SS, Schwartz TW. 2012. A major lineage of enteroendocrine cells coexpress CCK, secretin, GIP, GLP-1, PYY, and neurotensin but not somatostatin. Endocrinol 153: 5782–5795.

Ehrmann J, Malinsky J, Gregar I. 1990. Paneth cells and coeliac disease-quantitative, morphometric analysis. Acta Univ Palacki Olomic Fac Med 126: 187-201.

Eisenberg ML, Maker AV, Slezak LA, Nathan JD, Sritharan KC, Jena BP, Geibel JP, Andersen DK. 2005. Insulin receptor (IR) and glucose transporter 2 (GLUT2) proteins form a complex on the rat hepatocyte membrane. Cell Physiol Biochem 15(1-4): 51-58.

Eisselle R, Göke R, Willemer S, Harthus HP, Vermeer H, Arnold R, Göke B. 1992. Glucagon-like peptide-1 cells in the gastrointestinal tract and pancreas of rat, pig and man. Eur J Clin Invest 22, 283–291.

El K, Campbell JE. 2019. The role of GIP in α-cells and glucagon secretion. Peptides 125: 170213.

Elliott EN, Kaestner KH. 2015. Epigenetic regulation of the intestinal epithelium. Cel Mol Life Sci 72(21): 4139–4156.

Elliott RM, Morgan LM, Tredger JA, Deacon S, Wright J, Marks V. 1993. Glucagon-like peptide-1 (7-36) amide and glucose-dependent insulinotropic polypeptide secretion in response to nutrient ingestion in man: acute post-prandial and 24-h secretion patterns. J Endocrinol 138(1): 159-166.

Elnasharty MA, Abou-Ghanema II, Sayed-Ahmed A, Abo Elnour A. 2013. Mucosal-submucosal changes in rabbit duodenum during development. World Acad Sci Eng Technol 76: 500-508.

Elphick DA, Mahida YR. 2005. Paneth Cells: Their role in innate immunity and inflammatory disease. Gut 54(12): 1802-1809.

Engelstoft MS, Egerod KL, Holst B, Schwartz TW. 2008. A gut feeling for obesity: 7TM sensors on enteroendocrine cells. Cell Metab 8(6): 447-449.

Engevik MA, Luk B, Chang-Graham AL, Hall A, Herrmann B, Ruan W, Endres BT, Shi Z, Garey KW, Hyser JM, Versalovic J. 2019. Bifidobacterium dentium fortifies the intestinal mucus layer via autophagy and calcium signaling pathways. mBio 10(3): e01087-e01119.

Englander EW, Greeley GH. 2006. Postpyloric gastrointestinal peptides. En Physiology of the gastrointestinal tract, Johnson L. eds., 4aed. Academic Press. p 121-148.

Ergün E, Ergün L, Asti RN, Kürüm A. 2003. Light and electron microscopic morphology of Paneth cells in the sheep small intestine. Rev Med Vet 154: 351-355.

Erlandesen SL, Parson JA, Taylor TD. 1974. Ultraestructural inmmunocytochemical localization of lysozyme in Paneth cells of man. J Histochem Cytochem 22: 401-413.

Ermund A, Schutte A, Johansson MEV, Gustafsson JK, Hansson GC. 2013a. Studies of mucus in mouse stomach, small intestine and colon. I. Gastrointestinal mucus layers have different properties depending on location as well as over the Peyer's patches. Am J Physiol Gastroint Liver Physiol 305 (5): G341–G347.

Ermund A, Gustafsson JK, Hansson GC, Keita ÅV. 2013b. Mucus properties and goblet cell quantification in mouse, rat and human ileal Peyer's patches. PLoS ONE 8: 1-7.

Eroschenko VP. 2008. DiFiore´s Atlas of Histology with Functional correlations. 11va Edición. Baltimore and Philadephia: Lippincott, Williams and Wilkins. 465p.

Esquerre C, Samaniego L. 1976. pH a lo largo del tracto alimenticio de la alpaca adulta (Lama pacos). Res I Cong Per Bioquím, Lima Abs N°90.

Esquerre C, Samaniengo L, Román M. 1976. Estadios metabólicos en relacion al desarrollo postnatal de la alpaca (Lama pacos). Res I Cong Per Bioquím, Lima Abs 92.

Esquerre C, Samaniego L, Navas M, Sánchez D. 1979. Variaciones metabólicas asociadas al crecimiento postnatal de la alpaca. Res XII Cong Per Química, Lima.

Etienne-Mesmin L, Chassaing B, Desvaux M, De Paepe K, Gresse R, Sauvaitre T, Forano E, de Wiele TV, Schüller S, Juge N, Blanquet-Diot S. 2019. Experimental models to study intestinal microbes–mucus interactions in health and disease. FEMS Microbiol Rev 43 (5): 457–489.

Eurell JA, Frappier BL. 2006. Dellman´s Textbook of Veterinary Histology. 6ta Edición. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA, 420p.

Everard A, Belzer C, Geurts L, Ouwerkerk JP, Druart C, Bindels LB, Guiot Y, Derrien M, Muccioli GG, Delzenne NM, de Vos WM, Cani PD . 2013. Cross-talk between Akkermansia muciniphila and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. Proc Natl Acad Sci U S A 110(22): 9066–9071.

Fagarasan S, Honjo T. 2003. Intestinal IgA synthesis: Regulation of front line body defences. Nat Rev Immunol 3: 63–72.

Fakhry J, Wang J, Martins P, Fothergill LJ, Hunne B, Prieur P, Shulkes A, Rehfeld JF, Callaghan B, Furness JB. 2017. Distribution and characterisation of CCK containing enteroendocrine cells of the mouse small and large intestine. Cell Tissue Res 369: 245-253.

Fan MZ, Stoll B, Jiang R, Burrin DG. 2001. Enterocyte digestive enzyme activity along the crypt-villus and longitudinal axes in the neonatal pig small intestine. J Anim Sci 79(2): 371-381.

Farin HF, Van Es JH, Clevers H. 2012. Redundant sources of Wnt regulate intestinal stem cells and promote formation of Paneth cells. Gastroenterol 143: 1518–1529.

Farré R, Fiorani M, Abdu Rahiman S, Matteoli G. 2020. Intestinal permeability, inflammation and the role of nutrients. Nutrients 12: 1185: 1-18.

Farré R, Vicario M. 2017. Abnormal barrier function in gastrointestinal disorders. Handb Exp Pharmacol 239: 193–217.

Fawcet DW. 1995. Intestinos. En: Fawcett, DW (ed.): Tratado de Histología. 12º ed. Mc Graw Hill- Interamericana, Madrid. p 675-712.

Fehmann HC, Habener JF. 1992. Insulinotropic hormone glucagon-like peptide-I (7-37) stimulation of proinsulin gene expression and proinsulin biosynthesis in insulinoma beta TC-1 cells. Endocrinol 130: 159-166.

Feldman M, Friedman L, Lawrence B. 2016. Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal Liver Disease. 10 Edición. Saunders. Philadelphia USA, 1540p.

Feldman GM, Ickes JW Jr. 1997. Net H+ and K+ fluxes across the apical surface of rat distal colon. Am Physiol 272: G54-G62

Fenoglio CM, Kaye GI, Lane N. 1973. Distribution of human colonic lymphatics in normal, hyperplastic, and adenomatous tissue. Its relationship to metastasis from small carcinomas in pedunculated adenomas, with two case reports. Gastroenterol 64(1): 51-66.

Ferguson HW, Neil1 SD, Pearson GR. 1980. Dysentery in pigs associated with cystic enlargement of submucosal glands in the large intestine. Can J Comp Med 44: 109- 114.

Fernandez-Baca S. 1962. Algunos aspectos del desarrollo dentario en la alpaca (Lama pacos). Rev Fac Med Vet 16-17: 88-103.

Fernandez-Baca, S. 1991. Avances y Perpectivas del conocimiento de los Camélidos Sudamericanos. Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe, Santiago. Chile, 50-89p.

Fernández-Baca S. 2005. Situación actual de los camélidos sudamericanos en Perú. Proyecto de Cooperación Técnica en apoyo de la crianza y aprovechamiento de los Camélidos Sudamericanos en la Región Andina TCP/RLA/2914. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO).

Fernández-Baca S, Sumar J, Novoa C, Leyva V. 1973. Relación entre la ubicación del cuerpo lúteo y la localización del embrión en la alpaca. Rev Inv Pec IVITA 2(2): 131-135.

Fernández PE, Barbeito CG, Portiansky EL, Gimeno EJ. 2004. Lectin binding pattern in hiperplastic and metaplastic bullock prostatic tissues after diethylstilbestrol (DES) administration. Vet Rec 154: 298-303.

Fernandez-Estivariz C, Gu LH, Gu L, Jonas CR, Wallace TM, Pascal RR, Devaney KL, Farrell CL, Jones DP, Podolsky DK, Ziegler TR. 2003. Trefoil peptide expression and goblet cell number in rat intestine: effects of KGF and fastingrefeeding. Am J Physiol Regul Integ Comp Physiol 284(2): R564-R573.

Ferraris RP. 2001. Dietary and developmental regulation of intestinal sugar transport. Biochem J 360: 265-276.

Ferris CF, Armstrong MJ, George JK, Stevens CA, Carraway RE, Leeman SE. 1985a. Alcohol and fatty acid stimulation of neurotensin release from rat small intestine. Endocrinol 116(3): 1133–1138.

Ferris CF, Carraway RE, Hammer RA Leeman SE. 1985b. Release and degradation of neurotensin during perfusion of rat small intestine with lipid. Regul Pept 12: 101–111.

Ferraris RP, Choe JY, Patel CR. 2018. Intestinal absorption of fructose. Annu Rev Nutr 38:41–67.

Ferrufino J, Taxa L, Angeles G. 1996. Histología normal del intestino delgado. Rev Med Hered 7: 46-57.

Fink SL, Cookson BT. 2005. Apoptosis, pyroptosis, and necrosis: mechanistic description of dead and dying eukaryotic cells. Infect Immun. 73: 1907-1916.

Fiocca R, Rindi G, Capella C, Grimelius L, Polak JM, Schwartz TW, Yanaihara N, Solcia E. 1987. Glucagon, glicentin, proglucagon, PYY, PP and proPP-icosapeptide immunoreactivities of rectal carcinoid tumors and related non-tumor cells. Regul Pept 17(1): 9-29.

Fischer J, Uhlenbruck G, Klein PJ, Vierbuchen M, Fischer R. 1984. Characterization of glycoconjugates of human gastrointestinal mucosa by lectins. II. Lectin binding to the isolated glycoproteins of normal and malignant gastric mucosa. J Histochem Cytochem 32(7): 690-696.

Fleming SE, Choi SY, Fitch MD. 1991. Absorption of short-chain fatty acids from the rat cecum in vivo. J Nutr 121: 1787-1797

Fletcher CM, Coyne MJ, Comstock LE. 2011. Theoretical and experimental characterization of the scope of protein O-glycosylation in *Bacteroides fragilis*. J Biol Chem 286(5): 3219-3226.

Flores V. 2015. Embriología humana. 1ra Edic. Editorial Panámericana. Argentina, 584p.

Forbester JL, Hannan N, Vallier L, Dougan G. 2019. Derivation of intestinal organoids from human induced pluripotent stem cells for use as an infection system. Methods Mol Biol 576:157-169.

Forder REA. 2007. An in vivo model to study mucin-bacterial interaction during early post hatch development of broiler chickens. Tesis grado de Doctor of Philosophy: Australia: School of Agriculture, Food and Wine. South Australia: University of Adelaide, 188p.

Fordham RP, Yui S, Hannan NR, Soendergaard C, Madgwick A, Schweiger PJ, Nielsen OH, Vallier L, Pedersen RA, Nakamura T, Watanabe M, Jensen KB. 2013. Transplantation of expanded fetal intestinal progenitors contributes to colon regeneration after injury. Cell Stem Cell 13(6): 734-744.

Fowler M. 2008. Camelids are not ruminants. Zoo Wild Anim Med: 375-385.

Fowler ME, Bravo PW. 2010. Digestive system. In: Fowler ME editor: Medicine and surgery of Camelids. Ames. Iowa: Wiley, p 351–402.

Franklin WL. 1982. Biology, ecology, and relationship to man of the South American camelids. In Mares & H.H. Genoways Eds: Mammalian biology in South America. Pymatuning Laboratroy of Ecology 6, Spec publ series 6, Pittsburgh, University of Pittsburg. 457-489p.

Franklin V, Khoo PL, Bildsoe H, Wong N, Lewis S, Tam PP. 2008. Regionalisation of the endoderm progenitors and morphogenesis of the gut portals of the mouse embryo. Mech Dev 125 (7): 587-600.

Freddo AM, Shoffner SK, Shao Y, Taniguchi K, Grosse AS, Guysinger MN, Wang S, Rudraraju S, Margolis B, Garikipati K, Schnell S, Gumucio DL. 2016. Coordination of signaling and tissue mechanics during morphogenesis of murine intestinal villi: a role for mitotic cell rounding. Integr Biol (Camb) 8 (9): 918-928.

Freeman HJ. 2008. Crypt region localization of intestinal stem cells in adults. World J Gastroenterol 14(47): 7160-7162.

Freitas M, Cayuela C. 2000. Microbial modulation of host intestinal glycosylation patterns. Microb Ecol Health Dis 2: 165-178.

Friis-Hansen L, Sundler F, Li Y, Gillespie PJ, Saunders TL, Greenson JK, Owyang C, Rehfeld JF, Samuelson LC. 1998. Impaired gastric acid secretion in gastrin-deficient mice. Am J Physiol 274 (3 Pt 1): G561–G568.

Frølund S, Holm R, Brodin B, Nielsen CU. 2010. The proton-coupled amino acid transporter, SLC36A1 (hPAT1), transports Gly-Gly, Gly-Sar and other Gly-Gly mimetics. Br J Pharmacol 161(3):589-600.

Fukasawa Y, Segawa H, Kim JY, Chairoungdua A, Kim DK, Matsuo H, Cha SH, Endou H, Kanai Y. 2000. Identification and characterization of a Na+)-independent neutral amino acid transporter that associates with the 4F2 heavy chain and exhibits substrate selectivity for small neutral D- and L-amino acids. J Biol Chem 275: 9690-9698.

Furness JB, Rivera LR, Cho HJ, Bravo DM, Callaghan B. 2013. The gut as a sensory organ. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 10(12): 729-740.

Gabella G. 2012. Cells of visceral smooth muscles. J Smooth Muscle Res 48(4): 65-95.

Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson SA. 1992. Identification of programmed cell death in sity via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. J Cell Biol 119(3): 493-501.

Galotta JM. 2006. Lectinhistoquímica del epitelio intestinal en los mamíferos domésticos. Estudio comparativo entre el equino, el cerdo y el conejo. Tesis para optar el Grado de Magister en Anatomía y Fisiología Veterinaria. Brasil: Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto. 99 p.

Galotta JM, Márquez SG, Zanuzzi CN, Gimeno EJ, Portiansky EL, Barbeito CG. 2009. Lectin binding pattern of intestinal goblet cells in horse, pig and rabbit. Anim Biol 1: 49-58.

Ganapathy V, Leibach FH. 1983. Role of pH gradient and membrane potential in dipeptide transport in intestinal and renal brush-border membrane vesicles from the rabbit. Studies with L-carnosine and glycyl-L-proline. J Biol Chem 258: 14189-14192.

Ganapathy V, Burckhardt G, Leibach FH. 1984. Characteristics of glycylsarcosine transport in rabbit intestinal brush-border membrane vesicles. J Biol Chem 259: 8954-8959.

Ganapathy V, Gupta N, Martindale RG. 2006. Physiology of the gastrointestinal tract. 4ta edición. Edit. Kim E Barrett, Fayez K Ghishan, Juanita L Merchant, Hamid M Said, Jackie D Wood, Elsevier Inc, USA, 1993p.

Gao N, White P, Kaestner KH. 2009. Establishment of intestinal identity andepithelial-mesenchymal signaling by Cdx2. Dev Cell 16: 588-599.

García-Caballero T, Gallego R, Morel G. 2014. Técnicas inmunohistoquímicas. En Edit Díaz de Santos. Atlas de Inmunohistoquímica: Caracterización de células, tejidos y órganos normales. España, p 3-16.

García KE, Souza TCR, Landín GM, Barreyro AA, Santos MGB, Soto JGG. 2014. Microbial fermentation patterns, diarrhea incidence, and performance in weaned piglets fed a low protein diet supplemented with probiotics. Food Nut Sci 5(18): 1776-1786.

García SA, Castrejón MF, De la Cruz Palomino LF, Gonzales GJ, Murillo Lopez de Silanes MD, Salido RG. 1995. Fisiología Veterinaria. 1ra ed. Madrid: Interamericana McGraw-Hill. 800p.

Garrett WS, Gordon JI, Glimcher LH. 2010. Homeostasis and Inflammation in the Intestine. Cell 140(6): 859-870.

Garriga C, Hunter RR, Amat C, Planas JM, Mitchell MA, Moreto M. 2006. Heat stress increases apical glucose transport in the chicken jejunum. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 290: R195–R201.

Garrod D, Chidgey M. 2008. Desmosome structure, composition and function. Biochim Biophys Acta 1778: 572-587.

Gartner L, Hiatt J. 2015. Atlas en color y texto de Histología. 6ta edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina 535p.

Gazitua FJ, Corradini P, Ferrando G, Raggi LA, Parraguez VH. 2001. Prediction of gestational age by ultrasonic fetometry in llamas (Lama glama) and alpacas (Lama pacos). Anim Reprod Sci 66: 81-92.

Gehart H, Clevers H. 2019. Tales from the crypt: new insights into intestinal stem cells. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 16: 19-34.

Gelberg H, Whiteley H, Ballard G, Scott J, Kuhlenschmidt M. 1992. Temporal lectin histochemical characterization of porcine small intestine. Am J Vet Res 53 (10): 1873 - 1880.

Geneser F. 2000. Capítulo 18: Aparato digestivo. En: Histología. 3ºed. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, p 498-510.

Gent A, Creamer B. 1972. Paneth cells secretion. Digestion 7: 1–12.

George S, Oh Y, Lindblom S, Vilain S, Rosa AJ, Francis DH, Brözel VS, Kaushik RS. 2007. Lectin binding profile of the small intestine of five-week-old pigs in response to the use of chlortetracycline as a growth promotant and under gnotobiotic conditions. J Anim Sci 85 (7): 1640-1650.

George-Thompson AM, Iancu CV, Nguyen TT, Kim D, Choe JY. 2015. Inhibition of human GLUT1 and GLUT5 by plant carbohydrate products; insights into transport specificity. Sci Rep 5: 12804.

Gerbe F, Legraverend C, Jay P. 2012. The intestinal epithelium tuft cells: specification and function. Cell Mol Life Sci 69: 2907–2917.

Gerbe F, van Es JH, Makrini L, Brulin B, Mellitzer G, Robine S, Romagnolo B, Shroyer NF, Bourgaux JF, Pignodel C, Clevers H, Jay P. 2011. Distinct ATOH1 and Neurog3 requirements define tuft cells as a new secretory cell type in the intestinal epithelium. J Cell Biol 192: 767–780.

Gesase AP. 2007. Apocrine Secretory Processes in the globet cells of rat colon following stimulation with carbamylcholine. Ital J Anat Embryol 112(2): 117-129.

Gespach C, Bataille D, Jarrousse C, Rosselin G. 1979. Ontogeny and distribution of immunoreactive gastric inhibitory polypeptide (IR-GIP) in rat small intestine. Acta Endocrinol (Copenh) 90(2): 307-316.

Gevaert B, Wynendaele E, Stalmans S, Bracke N, D'Hondt M, Smolders I, Eeckhaut A, De Spiegeleer B. 2016. Blood–brain barrier transport kinetics of the neuromedin peptides NMU, NMN, NMB and NT. Neuropharmacol 107: 460–470.

Giblin LJ, Chang CJ, Bentley AF, Frederickson C, Lippard SJ, Frederickson CJ. 2006. Zinc-secreting Paneth cells studied by ZP fluorescence. J Histochem Cytochem 54(3): 311-316.

Gibson PR, Anderson RP, Mariadson JM, Wilson AJ. 1996. Protective role of the epithelium of the small intestine and colon. Inflamm Bowel Dis 2(4): 279-302.

Gilbert ER, Li H, Emmerson DA, Webb Jr KE, Wong EA. 2008. Dietary protein quality and feed restriction influence abundance of nutrient transporter mRNA in the small intestine of broiler chicks. J Nutr 138: 262-271.

Gilbert SF, Barresi MJ. 2016. Developmental Biology. 11va edición. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc, Publishers, USA, 810p.

Gill SR, Pop M, Deboy RT, Eckburg PB, Turnbaugh PJ, Samuel BS, Gordon JI, Relman DA, Fraser-Liggett CM, Nelson KE. 2006. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. Science 312(5778): 1355–1359.

Giussani DA, Riquelme RA, Sanhueza EM, Hanson MA, Blanco CE, Llanos AJ. 1999. Adrenergic and vasopressinergic contributions to the cardiovascular response to acute hypoxaemia in the llama fetus. J Physiol 515(Pt 1) (Pt 1): 233-241.

Glick D, Barth S, Macleod KF. 2010. Autophagy: cellular and molecular mechanisms. J Pathol 221: 3–12.

Goda T, Yasutake H, Tanaka T, Takase S. 1999. Lactase-phlorizin hydrolase and sucrase-isomaltase genes are expressed differently along the villus-crypt axis of rat jejunum. J Nutr 129 (6): 1107-1113.

Goedert M, Sturmey N, Williams BJ, Emson PC. 1984. The comparative distribution of xenopsin- and neurotensin-like immunoreactivity in Xenopus laevis and rat tissues. Brain Res 308: 273–280.

Göke M, Kanai M, Podolsky D. 1998. Intestinal fibroblasts regulate intestinal epithelial cell proliferation via hepatocyte growth factor. Am J Physiol 274: G809-G818.

Goldblum SE, Rai U, Tripathi A, Thakar M, De Leo L, Di Toro N, Not T, Ramachandran R, Puche AC, Hollenberg MD, Fasano A. 2011. The active Zot domain (aa 288–293) increases ZO-1 and myosin 1C serine/threonine phosphorylation, alters interaction betnween ZO-1 and its binding partners, and induces tight junction disassembly through proteinase activated receptor 2 activation. FASEB J 25: 144-158.

Goldspink DA, Lu VB, Miedzybrodzka EL, Smith CA, Foreman RE, Billing LJ, Kay RG, Reimann F, Gribble FM. 2020. Labeling and Characterization of Human GLP-1-Secreting L-cells in Primary Ileal Organoid Culture. Cell Reports 31(13): 107833.

Goldstein IJ, Hayes CE. 1978. The lectins: carbohydrate-binding proteins of plants and animals. Adv Carbohydr Chem Biochem 35: 127-340.

Goldstein IJ, Hughes RC, Monsigny M, Osawa T, Sharon N. 1980. What should be called a lectin?. Nature 285: 266.

Gonzáles NV, Badrán AF, Barbeito CG. 2005. Daily variations in colchicine-induced apoptosis in duodenal crypts. Chronobiol Int 22(1): 79-88.

González NV, Barbeito CG. 2011. Colchicine-induced apoptosis daily rhythms in male and female suckling mice. Animl Biol J 2 (1): 11-20.

Gorboulev V, Schürmann A, Vallon V, Kipp H, Jaschke A, Klessen D, Friedrich A, Scherneck S, Rieg T, Cunard R, Veyhl-Wichmann M, Srinivasan A, Balen D, Breljak D, Rexhepaj R, Parker HE, Gribble FM, Reimann F, Lang F, Wiese S, Sabolic I, Sendtner M, Koepsell H. 2012. Na+-D-glucose cotransporter SGLT11 is pivotal for intestinal glucose absorption and glucose dependent incretin secretion. Diabetes 61: 187-196.

Gordon JI, Hermiston ML. 1994. Differentiation and self-renewal inthe mouse gastrointestinal epithelium. Curr Opin Cell Biol 6:795-803.

Gorelick FS, Sarras Jr MP, Jamieson JD. 1982. Regional differences in lectin binding to colonic epithelium by fluorescent and electron microscopy. J Histochem Cytochem 30 (11): 1097 - 1108.

Goswami C, Shimada Y, Yoshimura M, Mondal A, Oda S, Tanaka T, Sakai T, Sakata I. 2015. Motilin Stimulates Gastric Acid Secretion in Coordination with Ghrelin in Suncus murinus. PLOS One 10 (6): e0131554.

Goto Y, Kiyono H. 2012. Epithelial barrier: an interface for the cross-communication between gut flora and immune system. Immunol Rev 245(1): 147-163.

Goto Y, Obata T, Kunisawa J, Sato S, Ivanov II, Lamichhane A, Takeyama N, Kamioka M, Sakamoto M, Matsuki T, Setoyama H, Imaoka A, Uematsu S, Akira S, Domino S E, Kulig P, Becher B, Renauld JC, Sasakawa C, Umesaki Y, Benno Y, Kiyono H. 2014. Innate lymphoid cells regulate intestinal epithelial cell glycosylation. Science 345: 1254009–1254009.

Goto Y, Uematsu S, Kiyono H. 2016. Epithelial glycosylation in gut homeostasis and inflammation. Nat Immunol 17: 1244–1251

Goto Y, Uematsu S, Kiyono H. 2016. Epithelial glycosylation in gut homeostasis and inflammation. Nat Immunol 17(11): 1244-1251.

Goyal RK, Chaudhury A. 2010. Mounting evidence against the role of ICC in neurotransmission to smooth muscle in the gut. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 298: G10–G13.

Graham DY, Go MF, Evans DJ Jr. 1992. Review article: urease, gastric ammonium/ammonia, and Helicobacter pylori--the past, the present, and recommendations for future research. Aliment Pharmacol Ther 6(6): 659-669.

Grainger S, Savory J G A, Lohnes D. 2010. Cdx2 regulates patterning of the intestinal epithelium. Dev Biol 339: 155–165.

Grand RJ, Watkins JB, Torti FM. 1976. Development of the human gastrointestinal tract. A review. Gastroenterol 70 (5 PT.1): 790-810.

Grefner NM, Gromova LV, Gruzdkov AA, Komissarchik I. 2015. Interaction of glucose transporters SGLT1 and GLUT2 with cytoskeleton in enterocytes and caco2 cells during hexose absorption. Cell Tissue Biol 9: 45–52.

Gregorieff A, Pinto D, Begthel H, Destrée O, Kielman M, Clevers H. 2005. Expression pattern of Wnt signaling components in the adult intestine. Gastroenterol 129 (2): 626-638.

Gribble FM, Reimann F. 2015. Enteroendocrine cells: chemosensors in the intestinal epithelium. Annu Rev Physiol 78:3.1–3.23.

Gribble FM, Reimann F. 2016. Enteroendocrine cells: chemosensors in the intestinal epithelium. Annu Rev Physiol 78: 277–299.

Gribble FM, Reimann F. 2017. Signalling in the gut endocrine axis. Physiol Behav 176: 183-188.

Gribble FM, Reimann F. 2019. Function and mechanisms of enteroendocrine cells and gut hormones in metabolism. Nature reviews endocrinology 15: 226- 237

Grootjans J, Hodin CM, De Haan J-J, DErikx JPM, Rouschop KMA, Verheyen FK, Van Dam RM, Dejong CHC, Buurman WA, Lenaerts K. 2011. Level of activation of the unfolded protein response correlates with Paneth cell apoptosis in human small intestine exposed to ischemia/reperfusion. Gastroenterol 140: 529-539.

Grosse AS, Pressprich MF, Curley LB, Hamilton KL, Margolis B, Hildebrand JD, Gumucio DL. 2011. Cell dynamics in fetal intestinal epithelium: implications for intestinal growth and morphogenesis. Development 138(20): 4423-4432.

Grosse, J. Heffron H, Burling K, Hossain MA, Habib AM, Rogers GJ, Richards P, Larder R, Rimmington D, Adriaenssens AA, Parton L, Powell J, Binda M, Colledge WH, Doran J, Toyoda Y, Wade JD, Aparicio S, Carlton MBL, Coll AP, Reimann F, O'Rahilly S, Gribble FM. 2014. Insulin- like peptide 5 is an orexigenic gastrointestinal hormone. Proc Natl Acad Sci USA 111: 11133–11138.

Grün D, Lyubimova A, Kester L, Wiebrands K, Basak O, Sasaki N, Clevers H, van Oudenaarden A. 2015. Single-cell messenger RNA sequencing reveals rare intestinal cell types. Nature 525: 251–255.

Grunddal KV, Ratner CF, Svendsen B, Sommer F, Engelstoft MS, Madsen AN, Pedersen J, Nøhr MK, Egerod KL, Nawrocki AR, Kowalski T, Howard AD, Poulsen

SS, Offermanns S, Bäckhed F, Holst JJ, Holst B , Schwartz TW . 2016. Neurotensin is coexpressed, coreleased, and acts together with GLP-1 and PYY in enteroendocrine control of metabolism. Endocrinol 157: 176-194.

Gui X, Carraway RE. 2001. Enhancement of jejunal absorption of conjugated bile acid by neurotensin in rats. Gastroenterol 120: 151-160.

Gui X, Degolier TF, Duke GE, Carraway RE. 2000. Neurotensin elevates hepatic bile acid secretion in chickens by a mechanism requiring an intact enterohepatic circulation. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol 127: 61-70.

Guilloteau P, Le Hu6rou-Luron I, Tallec M, Beaufils M, Toullec R. 1998. Effect of age and weaning on development of digestive tract of lambs. En: Blum J.W., Elsasser T., Guilloteau P. (Eds.), Proceedings of Symposium on Growth in Ruminants: Basic Aspects, Theory and Practice for the Future, Berne, Switzerland, p 287.

Guilloteau P, Zabielski R, Blum JW. 2009. Gastrointestinal tract and digestion in the young ruminant: ontogenesis, adaptations, consequences and manipulations. J Physiol Pharmacol 60 (3):37-46.

Gunawardene AR, Corfe BM, Staton CA. 2011. Classification and functions of enteroendocrine cells of the lower gastrointestinal tract. Int J Exp Pathol 92(4):219-31.

Gunther RD, Wright EM. 1983. Na+, Li+, and Cl- transport by brush border membranes from rabbit jejunum. J Membrane Biol 74: 85-94.

Gunther C, Neumann H, Neurath MF, Becker C. 2013. Apoptosis, necrosis and necroptosis: cell death regulation in the intestinal epithelium. Gut 62: 1062–1071.

Gusman J. 1970. Avances sobre la anatomía macroscópica en las alpacas. Anales de la 1. Convención de camélidos sudamericanos, Puno Perú, 40-48.

Gustafsson BI, Bakke I, Tommeras K, Waldrum HL. 2006. A new method for visualisation of gut mucosal cells, describing the enterochromaffin cell in the rat gastrointestinal tract. Scand J Gastroenterol 41: 390–395.

Gustafsson JK, Ermund A, Johansson MEV, Schutte A, Hansson GC, Sjovall H. 2012a. An ex vivo method for studying mucus formation, properties and thickness in human colonic biopsies and mouse small and large intestinal explants. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 302: G430–G438.

Gustafsson JK, Ermund A, Ambort D, Johansson MEV, Nilsson HE, Thorell K, Hebert H, Henrik Sjövall H, Hansson GC. 2012b. Bicarbonate and functional CFTR channel is required for proper mucin secretion and link Cystic Fibrosis with its mucus phenotype. J Exp Med 209 (7): 1263–1272.

Haber AL, Biton M, Rogel N, Herbst RH, Shekhar K, Smillie C, Burgin G, Delorey TM, Howitt MR, Katz Y, Tirosh I, Beyaz S, Dionne D, Zhang M, Raychowdhury R, Garrett WS, Rozenblatt-Rosen O, Shi HN, Yilmaz O, Xavier RJ, Regev A. 2017. A single-cell survey of the small intestinal epithelium. Nature 551 (7680): 333-339.

Habib AM, Richards P, Cairns LS, Rogers GJ, Bannon CA, Parker HE, Morley TCE, Yeo GSH, Reimann F, Gribble FM. 2012. Overlap of endocrine hormone expression in the mouse intestine revealed by transcriptional profiling and flow cytometry. Endocrinology 153: 3054–3065.

Haegebarth A, Bie W, Yang R, Crawford SE, Vasioukhin V, Fuchs E, Tyner AL. 2006. Protein Tyrosine Kinase 6 Negatively Regulates Growth and Promotes Enterocyte Differentiation in the Small Intestine. Mol Cell Biol 26(13): 4949-4957.

Hagen SJ, Takahashi S, Jansons R. 1997. Role of vacuolation in the death of gastric epithelial cells. Am J Physiol 272(1 Pt 1): C48-C58.

Hammer RA, Matsumoto BK, Blei AT, Pearl G, Ingram H. 1988. Local effect of neurotensin on canine ileal blood flow, and its release by luminal lipid. Scand J Gastroenterol 23: 449-457.

Hamza LO, Al-Manson NA. 2017. Histological and histochemical observations of the small Intestine in the indigenous Gazelle (Gazella subgutturosa). J Entom Zoo Stud 5(6): 948-956.

Han KN, Kwon IK, Lohakare JD, Heo S, Chae BJ. 2007. Chito-oligosaccharides as an alternative to antimicrobials in improving performance, digestibility and microbial ecology of the gut in weanling pigs. Anim Biosci 20 (4): 556-562.

Han NS, Kim MJ, Jung YS, Lien EM, Jun S, Park JI. 2017. Quiescence exit of Tertþ stem cells by Wnt/b-catenin is indispensable for intestinal regeneration. Cell Rep 21: 2571-2584.

Hansson GC. 2020. Mucins and the Microbiome. Annu Rev Biochem 89: 769-793.

Hao S, Fan Q, Bai Y, Fang H, Zhou J, Fukuda T, Gu J, Li M, Li W. 2020. Core Fucosylation of Intestinal Epithelial Cells Protects Against *Salmonella* Typhi Infection via

Up-Regulating the Biological Antagonism of Intestinal Microbiota. Front Microbiol 11: 1097.

Harada N, Yamada Y, Tsukiyama K, Yamada C, Nakamura Y, Mukai E, Hamasaki A, Liu X, Toyoda K, Seino Y, Inagaki N. 2008. A novel GIP receptor splice variant influences GIP sensitivity of pancreatic betacells in obese mice. Am J Physiol Endocrinol Metab 294: E61–E68.

Hashimoto T, Perlot T, Rehman A, Trichereau J, Ishiguro H, Paolino M, Sigl V, Hanada T, Hanada R, Lipinski S, Wild B, Camargo SMR, Singer D, Richter A, Kuba K, Fukamizu A, Schreiber S, Clevers H, Verrey F, Rosenstiel P, Penninger JM. 2012. ACE2 links amino acid malnutrition to microbial ecology and intestinal inflammation. Nature 487(7408): 477-481.

Hauge M, Vestmar MA, Husted AS, Ekberg JP, Wright MJ, Di SJ, Weinglass AB, Engelstoft MS, Madsen AN, Luckmann M, Miller MW, Trujillo M E, Frimurer TM, Holst B, Howard AD, Schwartz TW. 2014. GPR40 (FFAR1) - Combined Gs and Gq signaling in vitro is associated with robust incretin secretagogue action ex vivo and in vivo. Mol Metab 4: 3-14.

Heanue T, Pachnis V. 2007. Enteric nervous system development and Hirschsprung's disease: advances in genetic and stem cell studies. Nat Rev Neurosci 8:466-479.

Heath JP. 1996. Epithelial cell migration in the intestine. Cell Biol Int 20: 139-146.

Hebel R. 1960. Untersuchungen iiber das Vorkommen von lymphatischen Darmkrypten in der Tunica submucosa des Darmes von Schwein, Rind, Schaf, Hund und Katze. Anat Anz 109: 7-27.

Hecht G. 1999. Innate mechanisms of epithelial host defense: spotlight on intestine. Am J Physiol 277: C351-C358.

Hegyi P, Petersen OH. 2013. The exocrine pancreas: the acinar-ductal tango in physiology and pathophysiology. Rev Physiol Biochem Pharmacol 165: 1-30.

Heida FH, Beyduz G, Bulthuis ML, Kooi EM, Bos AF, Timmer A, Hulscher JB. 2016. Paneth cells in the developing gut: when do they arise and when are they immune competent?. Pediatr Res 80(2): 306-310.

Helander HF, Fändriks L. 2014. Surface area of the digestive tract - revisited. Scand J Gastroenterol 49(6): 681-689.

Henning SJ. 1981. Postnatal development: coordination of feeding, digestion, and metabolism. Am J Physiol Gastroint Liver Physiol 241(3): G199–G214.

Henriksen JH, de Muckadell OB. 2000. Secretin, its discovery, and the introduction of the hormone concept. Scand J Clin Lab Invest 60(6):463-71.

Hernández P, Martín O, Rodríguez Y, Ganem F. 1999. Aplicaciones de las lectinas. Rev Cub Hematol, Inmunol y Hemot 15(2): 91-95.

Hernández P, Pérez E, Martínez L, Ortiz B, Martínez G. 2005. Las lectinas vegetales como modelo de estudio de las interacciones proteína – carbohidrato. REB 24 (1): 21-27, 2005.

Herrmann C, Göke R, Richter G, Fehmann HC, Arnold R, Göke B. 1995. Glucagon-like peptide-1 and glucose-dependent insulin-releasing polypeptide plasma levels in response to nutrients. Digestion 56(2): 117-126.

Hilton WH. 1902. The morphology and development of intetinal folds and villi in vertebrates. Am J Anat 1: 459-505.

Hodin RA, Meng S, Archer S, Tang R. 1996. Cellular Growth State Differentially Regulates Enterocyte Gene Expression in Butyrate-treated HT-29 Cells. Cell Growth Diff 7(5: 647-653.

Hofer D, Puschel B, Drenckhahn D. 1996. Taste receptor-like cells in the rat gut identified by expression of alpha-gustducin. Proc Natl Acad Sci USA 93: 6631–6634.

Hoinard C, Gore J. 1988. Cytoplasmic pH in isolated rat enterocytes. Role of Na+/H+ exchanger. Biochim Biophys Acta 941: 111-118.

Höker M, Wiedenmann B. 2006. Molecular mechanisms of enteroendocrine differentiation. Intestinal plasticity. Health Disease 89: 160-174.

Holdsworth CD, Wilson TH. 1967. Development of active sugar and amino acid transport in the yolk sac and intestine of the chicken. Am J Physiol 212(2): 233-240.

Holst JJ. 2007. The physiology of glucagon-like peptide 1. Physiol Rev 87: 1409-1439.

Holst JJ, Rosenkilde MM. 2020. Recent advances of GIP and future horizons. Peptides 25: 170230.

Hooper LV. 2015. Epithelial Cell Contributions to Intestinal Immunity. Adv Immunol 126:129 -172.

Horiuchi K, Naito I, Nakano K, Nakatani S, Nishida K, Taguchi T, Ohtsuka A. 2005. Three-dimensional ultrastructure of the brush border glycocalyx in the mouse small intestine: a high resolution scanning electronmicroscopic study. Arch Histol Cytol 68:51-56.

Hornef MF, Pütsep K, Karlsson J, Refai E, Andersson M. 2004. Increased variability of intestinal antimicrobial peptides by covalent dimer formation. Nat Immunol 5: pp. 836-843

Hounnou G, Destrieux C, Desme J, Bertrand P, Velut S. 2002. Anatomical study of the length of the human intestine. Surg Radiol Anat 24 (5): 290-294.

Hoyer LL, Hamilton AC, Steenbergen SM, Vimr ER. 1992. Cloning, sequencing and distribution of the Salmonella typhimurium LT2 sialidase gene, nanH, provides evidence for interspecies gene transfer. Mol Microbiol 6: 873–884.

Huaynates O Johan, Espinoza B Juan, López-Torres Bernardo, Rodríguez G Alejandro, Caro M César, Rodriguez G J. 2016. Relación entre la glucemia maternal y fetal y el páncreas endocrino fetal en alpacas. Rev Invest Vet Perú 27(1): 17-23.

Hubel KA. 1969. Effect of luminal chloride concentration on bicarbonate secretion in rat ileum. Am J Physiol 217: 40-45.

Hurd EA, Holmén JM, Hansson GC, Domino SE. 2005. Gastrointestinal mucins of Fut2-null mice lack terminal fucosylation without affecting colonization by Candida albicans. Glycobiol 15(10):1002-1007.

Hwang ES, Hirayama BA, Wright EM. 1991. Distribution of the SGLT1 Na+/glucose cotransporter and mRNA along the crypt-villus axis of rabbit small intestine. Biochem Bioph Res Co 181: 1208-1217

ICVGAN. 2017. Nómina anatómica veterinaria. 6th ed. Prepared by the International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature (I.C.V.G.A.N.) Published by the Editorial Committee Hanover (Germany), Ghent (Belgium), Columbia, MO (U.S.A.), Rio de Janeiro (Brazil).

Iji PA, Saki A, Tivey DR. 2001. Body and intestinal growth of broiler chicks on a commercial starter diet. I. Intestinal weight and mucosal development. Br Poult Sci 42: 505-513.

INEI (Instituto Nacional de Estadística e Informática). 2012. IV Censo Nacional Agropecuario 2012. Disponible en: http://censos.inei.gob.pe/cenagro/tabulados/.

Inohara N, Ogura Y, Fontalba A, Gutierrez O, Pons F, Crespo J, Fukase K, Inamura S, Kusumoto S, Hashimoto M, Foster SJ, Moran AP, Fernandez-Luna JL, Nuñez G. 2003. Host recognition of bacterial muramyl dipeptide mediated through NOD2. Implications for Crohn's disease. J Biol Chem 278(8): 5509-5512.

Ireland H, Houghton C, Howard L, Winton D J. 2005. Cellular inheritance of a Cre-activated reporter gene to determine Paneth cell longevity in the murine small intestine. Dev Dyn 233: 1332-1336.

Isomaki A. 1962. Electron microscopic observations on a special cell type in gastro-intestinal epithelium of some laboratory animals. Acta Pathol Microbiol Scand 154: 115-118.

Itzkovitz S, Lyubimova A, Blat IC, Maynard M, van Es J, Lees J, Jacks T, Clevers H, van Oudenaarden A. 2011. Single-molecule transcript counting of stem-cell markers in the mouse intestine. Nat Cell Biol 14: 106-114.

Ivory CP, Wallace LE, McCafferty DM, Sigalet DL. 2008. Interleukin-10-independent anti-inflammatory actions of glucagon-like peptide 2. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 295: G1202–G1210.

Iwakiri D, Podolsky DK. 2001. Keratinocyte growth factor promotes globet cells differentation trough regulataion of globet cell silener inhibitor. Gastroenterol 120: 1372-1380.

Jahan-Mihan A, Luhovyy BL, El Khoury D, Anderson GH. 2011. Dietary proteins as determinants of metabolic and physiologic functions of the gastrointestinal tract. Nutrients 3(5): 574-603.

Jakob E, Baker SJ, Swaminathan SP. 1987. 'M' cells in the follicle-associated epithelium of the human colon. Histopathol 11(9): 941-952.

Jarvi O, Keyrilainen O. 1956. On the cellular structures of the epithelial invasions in the glandular stomach of mice caused by intramural application of 20-methylcholantren. Acta Pathol Microbiol Scand 39 (l 111): 72-73.

Jelínek F. 1996. Changes of glycid composition and binding of some lectins in the caecum of rabbits with experimentally induced enterotoxaemia. Vet Med Czech 41: 219– 223.

Jenny M, Uhl C, Roche C, Duluc I, Guillermin V, Guillemot F, Jensen J, Kedinger M, Gradwohl G. 2002. Neurogenin3 is differentially required for endocrine cell fate specification in the intestinal and gastric epithelium. EMBO J 21: 6338-6347.

Jensen J, Pedersen EE, Galante P, Hald J, Heller RS, Ishibashi M, Kageyama R, Guillemot F, Serup P, Madsen OD. 2000. Control of endodermal endocrine development by Hes-1. Nat Genet 24: 36-44.

Jepson MA, Simmons NL, Hirst GL, Hirst BH. 1993. Identification of M cells and their distribution in rabbit intestinal Peyer's patches and appendix. Cell Tissue Res 273: 127–136.

Jin T, Bokarewa M, Foster T, Mitchell J, Higgins J, Tarkowski A. 2004. Staphylococcus aureus resists Human Defensins by Production of Staphylokinase, a Novel Bacterial Evasion Mechanism. J Immunol 172(2): 1169-1176.

Johansson MEV. 2012. Fast Renewal of the Distal Colonic Mucus Layers by the Surface Goblet Cells as Measured by In Vivo Labeling of Mucin Glycoproteins. PLoS ONE 7 (7): e41009.

Johansson MEV, Hansson GC. 2016. Immunological aspects of intestinal mucus and mucins. Nat Rev Immunol 16 (10): 639–349.

Johansson MEV, Larsson JM, Hansson GC. 2011. The two mucus layers of colon are organized by the MUC2 mucin, whereas the outer layer is a legislator of host-microbial interactions. Proc Natl Acad Sci USA 108(1): 4659–4665.

Johansson MEV, Phillipson M, Petersson J, Holm L, Velcich A, Hansson GC. 2008. The inner of the two Muc2 mucin dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. Proc Natl Acad Sci USA 105 (39): 15064-15069.

Johansson ME, Sjövall H, Hansson GC. 2013. The gastrointestinal mucus system in health and disease. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 10 (6): 352-361.

Johnson O, Marais S, Walters J, van der Merwe EL, Alagaili AN, Mohammed OB, Bennett NC, Kotzé SH. 2016. The distribution of mucous secreting cells in the gastrointestinal tracts of three small rodents from Saudi Arabia: Acomys dimidiatus, Meriones rex and Meriones libycus. Acta Histochem 118 (2): 118-128.

Joo NS, London RM, Kim HD, Forte LR, Clarke LL. 1998. Regulation of intestinal Cl- and HCO3-secretion by uroguanylin. Am J Physiol 274: G633- G644.

Jørgensen KD, Thim L, Jacobsen HE. 1982. Pancreatic spasmolytic polypeptide (PSP). III. Pharmacology of a new porcine pancreatic polypeptide with spasmolytic and gastric acid secretion inhibitory effects. Regul Pept 3: 207–219.

Jorsal T, Rhee NA, Pedersen J, Wahlgren CD, Mortensen B, Jepsen SL, Jelsing J, Dalbøge LS, Vilmann P, Hassan H, Hendel JW, Poulsen SS, Holst JJ, Vilsbøll T, Knop FK. 2018. Enteroendocrine K and L cells in healthy and type 2 diabetic individuals. Diabetologia 61(2): 284-294.

Kabiri Z, Greicius G, Madan B, Biechele S, Zhong Z, Zaribafzadeh H, Edison Aliyev J, Wu Y, Bunte R, Williams BO, Rossant J, Virshup DM. 2014. Stroma provides an intestinal stem cell niche in the absence of epithelial Wnts. Development 141: 2206-2215.

Kadwell M, Fernández M, Stanley HF, Baldi R, Wheeler JC, Rosadio R, Bruford M. 2001. Genetic analysis reveals the wild ancestors of the llama and the alpaca. Prc R Soc Lond B 268: 2575-2584.

Kalafatakis K, Triantafyllou K. 2011. Contribution of neurotensin in the immune and neuroendocrine modulation of normal and abnormal enteric function. Regul Pept 170(1-3): 7-17.

Kaltner H, Manning JC, García Caballero G, Di Salvo C, Gabba A, Romero-Hernandez LL, Knospe C, Wu D, Daly HC, O'Shea DF, Gabiusa HJ, Murphy PV. 2018. Revealing biomedically relevant cell and lectin type-dependent structure–activity profiles for glycoclusters by using tissue sections as an assay platform. RSC Adv 8: 28716-28735.

Kamal M, Wakelin D, Ouellette AJ, Smith A, Podolsky DK, Mahida YR. 2001. Mucosal T cells regulate Paneth and intermediate cell numbers in the small intestine of T. Spiralis-infected mice. Clin Exp Inmunol 126: 117-125.

Kanai Y, Clémençon B, Simonin A, Leuenberger M, Lochner M, Weisstanner M, Hediger MA. 2013. The SLC1 high-affinity glutamate and neutral amino acid transporter family. Mol Aspects Med 34: 108–120.

Kandasamy J, Huda S, Ambalavanan N, Jilling T. 2014. Inflammatory signals that regulate intestinal epithelial renewal, differentiation, migration and cell death: implications for necrotizing enterocolitis. Pathophysiology 21: 67-80.

Karcher DM, Applegate T. 2008. Survey of enterocyte morphology and tight junction formation in the small intestine of avian embryos. Poult Sci 87: 339-350.

Karin M, Clevers H. 2016. Reparative inflammation takes charge of tissue regeneration. Nature 529: 307–315.

Karlsson BW. 1972. Ultraestructure of the small intestinal epithelium of the developing pig foetus. Z Anat Entwicklungsgesch 135 (3): 253-264.

Kaser A, Lee AH, Franke A, Glickman JN, Zeissig S, Tilg H, Nieuwenhuis EES, Higgins DE, Schreiber S, Glimcher LH, Blumberg RS. 2008. XBP1 links ER stress to intestinal inflammation and confers genetic risk for human inflammatory bowel disease. Cell 134(5):743–756.

Kasprzak A, Zabel M, Biczysk W. 2007. Selected markers (chromogranin A, neuron-specific enolase, synaptophysin, protein gene product 9.5) in diagnosis and prognosis of neuroendocrine pulmonary tumours. Pol J Pathol 58: 23–33.

Kato S, Takahashi A, Shindo M, Yoshida A, Kawamura T, Matsumoto K, Matsuura B. 2019. Characterization of the gastric motility response to human motilin and erythromycin in human motilin receptor-expressing transgenic mice. PLoS One 14(2): e0205939.

Kaup FJ, Drommer W, Jochims K, Pickel M. 1996. Ultrastructure of pre- and postcolostral enterocytes of the newborn calf. Anat Hist Embryol 25(4): 249-255.

Kavanaugh D, O'Callaghan J, Kilcoyne M, Kane M, Joshi L, Hickey RM. 2015. The intestinal glycome and its modulation by diet and nutrition. Nutr Rev 73(6): 359-375.

Kazanskaya O, Glinka A, del Barco Barrantes I, Stannek P, Niehrs C, Wu W. 2004. R-Spondin2 is a secreted activator of Wnt/β-catenin signaling and is required for Xenopus myogenesis. Dev Cell 7(4): 525-534.

Keita AV, Söderholm JD. 2010. The intestinal barrier and its regulation by neuroimmune factors. Neurogastroenterol Motil 22: 718-733.

Keller III TCS, Mooseker MS. 2011. Enterocyte Cytoskeleton: Its Structure and Function. En: Comprehensive Physiology, Supplement 19. Handbook of Physiology, The Gastrointestinal System, Intestinal Absorption and Secretion. American Physiology Society, USA. 209-221p.

Kellett GL, Brot-Laroche E, Mace OJ, Leturque A. 2008. Sugar absorption in the intestine: the role of GLUT2. Annu Rev Nutr 28: 35-54.

Kelly P, Feakins R, Domizio P, Murphy J, Bevins C, Wilson J, McPhail G, Poulsom R, Dhaliwal W. 2004. Paneth cell granule depletion in the human small intestine under infective and nutritional stress. Clin Exp Immunol 135(2): 303-309.

Kenney BC, Jain D. 2008. Identification of lymphatics within the colonic lamina propria in inflammation and neoplasia using the monoclonal antibody D2-40. Yale J Biol Med 81(3): 103–113.

Keshav S. 2006. Paneth cells: leukocyte-like mediators of innate immunity in the intestine. J Leuk Biol 80: 500-508.

Khan JM, Wingertzahn MA, Teichberg S, Vancurova I, Harper RG, Wapnir RA. 2000. Development of the intestinal SGLT1 transporter in rats. Mol Genet Metab 69 (3): 233-239.

Kiela PR, Ghishan FK. 2016. Physiology of Intestinal Absorption and Secretion. Best Pract Res Clin Gastroenterol 30(2): 145-59.

Kim KA, Kakitani M, Zhao J, Oshima T, Tang T, Binnerts M, Liu Y, Boyle B, Park E, Emtage P, Funk WD, Tomizuka K. 2005. Mitogenic influence of human R-spondin1 on the intestinal epithelium. Science 309: 1256–1259.

Kim YS, Ho SB. 2010. Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: recent insights and progress. Curr Gastroenterol Rep 12 (5): 319-330.

Kimelman D, Griffin KJ. 2000. Vertebrate mesendoderm induction and patterning. Curr Opin Gen Dev 10(4): 350-356.

Kindon H, Pothoulakis C, Thim L, Lynch-Devaney K, Podolsky DK. 1995. Trefoil peptides protect intestinal epitelial monolayer/barrier function: cooperative interaction with mucin glycoprotein. Gastroenterol 109: 516–523.

Kinne-Saffra E. 1985. Transport function of renal cell membrane: ATPdriven transport system. En: Kinne R (ed). Renal biochemistry: cells, membranes, molecules. Amsterdam, Elsevier. p 143- 174.

Kissoon-Singh V, Moreau F, Trusevych E, Chadee K. 2013. Entamoeba histolytica exacerbates epithelial tight junction permeability and proinflammatory responses in Muc2(-/-) mice. Am J Pathol 182(3): 852–865.

Kitabgi P, Freychet P. 1978. Effects of neurotensin on isolated intestinal smooth muscles. Eur J Pharmacol 50 (4): 349-57.

Kitagbi P. Carraway R. Leeman SE. 1976. Isolation of a tridecapeptide from bovine intestinal tissue and its partial characterisation as neurotensin. J BioI Chern 251: 7053-7058.

Kitazawa T, Kaiya H. 2019. Regulation of gastrointestinal motility by motilin and ghrelin in vertebrates. Front Endocrinol (Lausanne) 10: 278.

Kiyohara M, Nakatomi T, Kurihara S, Fushinobu S, Suzuki H, Tanaka T, Shoda S, Kitaoka M, Katayama T, Ashida H K. 2012. α-N-acetylgalactosaminidase from infant-associated bifidobacteria belonging to novel glycoside hydrolase family 129 is implicated in alternative mucin degradation pathway. J Biol Chem 287 (1): 693-700.

Klein RM, McKenzie JC. 1983a. The role of cell renewal in the ontogeny of the intestine. I. Cell proliferation patterns in adult, fetal and neonatal intestine. J Ped Gastroenterol Nut 2: 10-43.

Klein RM, McKenzie JC. 1983b. The role of cell renewal in the ontogeny of the intestine. II. Regulation of cell proliferation in the adult, fetal and neonatal intestine. J Ped Gastroenterol Nut 2: 204-228.

Klein PJ, Osmers R, Vierbuchen M, Ortmann M, Kania J, Uhlenbruck G. 1981. The importance of lectin binding sites and carcinoembryonic antigen with regard to normal, hyperplastic, adenomatous, and carcinomatous colonic mucosa. Recent Results Cancer Res 79: 1-9.

Klinger S, Lange P, Brandt E, Hustedt K, Schröder B, Breves G, Herrmann J. 2018. Degree of SGLT1 phosphorylation is associated with but does not determine segment-specific glucose transport features in the porcine small intestines. Physiol Rep 6(1): e13562.

Kobayashi D, Nozawa T, Imai K, Nezu J, Tsuji A, Tamai I. 2003. Involvement of human organic anion transporting polypeptide OATP-B (SLC21A9) in pH-dependent transport across intestinal apical membrane. J Pharmacol Exp Ther 306(2): 703-708.

Koehler J A, Baggio L L, Yusta B, Longuet C, Rowland KJ, Cao X, Holland D, Brubaker PL, Drucker DJ. 2015. GLP-1R agonists promote normal and neoplastic intestinal growth through mechanisms requiring Fgf7. Cell Metab 21(3):379-391.

Kogut MH, Arsenault RJ. 2015. A role for the non-canonical Wnt-beta-catenin and TGF-beta signaling pathways in the induction of tolerance during the establishment of a *Salmonella enterica* serovar enteritidis persistent cecal infection in chickens. Front Vet Sci 2: 33.

Kokrashvili Z, Rodriguez D, Yevshayeva V, Zhou H, Margolskee RF, Mosinger B. 2009. Release of endogenous opioids from duodenal enteroendocrine cells requires Trpm5. Gastroenterol 137: 598-606.

Kömüves LG, Nicols BL, Hutchens TW, Heath JP. 1993. Formation of crystalloid inclusions in the small intestine of neonatal pigs: an immunocytochemical study using colloidal gold. Histochem J 25(1): 19-29.

König J, Wells J, Cani PD, García-Ródenas CL, MacDonald T, Mercenier A, Whyte J, Troost F, Brummer RJ. 2016. Human intestinal barrier function in health and disease. Clin Transl Gastroenterol 7(10): e196.

Koren E, Yosefzon Y, Ankawa R, Soteriou D, Jacob A, Nevelsky A, Ben-Yosef R, Bar-Sela G, Fuchs Y. 2018. ARTS mediates apoptosis and regeneration of the intestinal stem cell niche. Nat Commun 9(1): 4582.

Korimilli A, Parkman HP. 2010. Effect of atilmotin, a motilin receptor agonist, on esophageal, lower esophageal sphincter, and gastric pressures. Dig Dis Sci 55(2): 300-306.

Korinek V, Barker N, Moerer P, van Donselaar E, Huls G, Peters PJ, Clevers H. 1998. Depletion of epithelial stem-cell compartments in the small intestine of mice lacking Tcf-4. Nat Genet 19 (4): 379-383.

Kosinski C, Li VS, Chan AS, Zhang J, Ho C, Tsui WY, Chan TL, Mifflin RC, Powell DW, Yuen ST, Leung SY, Chen X. 2007. Gene expression patterns of human colon tops and basal crypts and BMP antagonists as intestinal stem cell niche factors. Proc Natl Acad Sci USA 104: 15418-15423.

Kotzé SH, Coetzee HL. 1994. A histocytochemical study of mucus glycoproteins or mucins in the intestinal tract of the African elephant (Loxodonta africana). Onderstepoort J Vet Res 61(2): 177-181.

Kowalczuk S, Bröer A, Munzinger M, Tietze N, Klingel K, Bröer S. 2005. Molecular cloning of the mouse IMINO system: An Na+- and Cl--dependent proline transporter. Biochem J 386: 417-422. .

Kowalczuk S, Bröer A, Tietze N, Vanslambrouck J M, Rasko J E, Bröer S. 2008. A protein complex in the brush-border membrane explains a Hartnup disorder allele. FASEB J 22: 2880–2887.

Krause WJ. 2000. Brunner's glands: A structural, histochemical and pathological profile. Prog Histochem Cytochem 35(4): 255–367.

Kudelka MR, Stowell SR, Cummings RD, Neish AS. 2020. Intestinal epithelial glycosylation in homeostasis and gut microbiota interactions in IBD. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 17(10): 597-617.

Kuhre RE, Gribble FM, Hartmann B, Reimann F, Windeløv JA, Rehfeld JF, Holst JJ. 2014. Fructose stimulates GLP-1 but not GIP secretion in mice, rats, and humans Am J Physiol Gastroint Liver Physiol 306: G622–G630.

Kuhre RE, Bechmann LE, Wewer Albrechtsen NJ, Hartmann B, Holst JJ. 2015. Glucose stimulates neurotensin secretion from the rat small intestine by mechanisms involving SGLT1 and GLUT2, leading to cell depolarization and calcium influx. Am J Physiol Endocrinol Metab 308(12): E1123-E1130.

Kunzelmann K, Mall M. 2002. Electrolyte transport in the mammalian colon: mechanisms and implications for disease. Physiol Rev 82(1): 245–289.

Lacroix B, Kedinger M, Simon-Assmann P, Haffen K. 1984a. Early organogenesis of human small intestine: scanning electron microscopy and brush border enzymology. Gut 25(9): 925–930.

Lacroix B, Kedinger M, Simon-Assmann P, Rousset M, Zweibaum A, Haffen K. 1984b. Developmental pattern of brush border enzymes in the human fetal colon. Correlation with some morphogenetic events. Early Hum Dev 9(2): 95-103.

Lai S, Yu W, Wallace L, Sigalet D. 2014. Intestinal muscularis propria increases in thickness with corrected gestational age and is focally attenuated in patients with isolated intestinal perforations. J Pediatr Surg 49 (1): 114-119.

Lala S, Ogura Y, Osborne C, Hor SY, Bromfield A, Davies S, Ogunbiyi O, Nuñez G, Keshav S. 2003. Crohn's disease and the NOD2 gene: a role for paneth cells. Gastroenterol 125(1): 47-57.

Lallès JP. 2014. Intestinal alkaline phosphatase: novel functions and protective effects. Nutr Rev 72(2): 82-94.

Latorre R, Sternini C, De Giorgio R, Greenwood-Van Meerveld R. 2016. Enteroendocrine cells: A review of their role in brain-gut communication. Neurogastroenterol Motil 28(5): 620–630.

Laudisi F, Di Fusco D, Dinallo V, Stolfi C, Di Grazia A, Marafini I, Colantoni A, Ortenzi A, Alteri C, Guerrieri F, Mavilio M, Ceccherini-Silberstein F, Federici M, MacDonald TT, Monteleone I, Monteleone G. 2019. The food additive maltodextrin promotes endoplasmic reticulum stress-driven mucus depletion and exacerbates intestinal inflammation. Cell Mol Gastroenterol Hepatol 7 (2): 457-473.

Lawhon SD, Khare S, Rossetti CA, Everts RE, Galindo CL, Luciano SA, Figueiredo JF, Nunes JE, Gull T, Davidson GS, Drake KL, Garner HR, Lewin HA, Bäumler AJ, Adams LG. 2011. Role of SPI-1 secreted effectors in acute bovine response to Salmonella enterica Serovar Typhimurium: a systems biology analysis approach. PLoS One 6(11): e26869.

Lawson KA, Meneses JJ, Pedersen RA. 1986. Cell fate and cell lineage in the endoderm of the presomite mouse embryo, studied with an intracellular tracer. Dev Biol 115 (2): 325-339.

Le Douarin N, Theillet MA. 1973. The migration of neural crest cells to the wall of the digestive tract in avian embryo. J Embryol Exp Morphol 30: 31–48.

Le Guen L, Marchal S, Faure S, de Santa Barbara P. 2015. Mesenchymal-epithelial interactions during digestive tract development and epithelial stem cell regeneration. Cell Mol Life Sci 72 (20): 3883-3896.

Leblond CP. 1981. The life history of cells in renewing systems. Am J Anat 160(2): 114-158.

Lee CS, Perreault N, Brestelli JE, Kaestner KH. 2002. Neurogenin 3 is essential for the proper specification of gastric enteroendocrine cells and the maintenance of gastric epithelial cell identity. Genes Dev 16: 1488–1497.

Lee HO, Norden C. 2013. Mechanisms controlling arrangements and movements of nuclei in pseudostratified epithelia. Trends Cell Biol 23(3): 141-150.

Lee JY, Lim W, Park S, Kim J, You S, Song G. 2019. Deoxynivalenol induces apoptosis and disrupts cellular homeostasis through MAPK signaling pathways in bovine mammary epithelial cells. Environ Pollut 252: 879-887.

Lee YJ, Swencki B, Shoichet S, Shivdasani RA. 1999. A possible role for the High Mobility Group Box Transcription Factor Tcf-4 in vertebrate gut epithelial cell differentiation. J Biol Chem 274(3): 1566-1572.

Leedham SJ, Brittan M, Mcdonald SA, Wrigth NA. 2005. Intestinal stem cells. J Cell Mol Med 9(1): 11-24.

Leeper LL, Henning SJ. 1990. Development and tissue distribution of sucrase-isomaltase mRNA in rats. Am J Physiol 258 (1 Pt 1): G52-G58.

Leeson CR, Leeson TS. 1967. The fine structure of Brunner's glands in the rabbit. Anat Rec 159: 409-419.

Lendrum AC. 1947. The phloxin - tartrazine method as a general histological stain and for the demonstration of inclusion bodies. J Pathol Bacteriol 59 (3): 399-404.

Lepourcelet M, Tou L, Cai L, Sawada J, Lazar AJ, Glickman JN, Williamson JA, Everett AD, Redston M, Fox EA, Nakatani Y, Shivdasani RA. 2005. Insights into developmental mechanisms and cancers in the mammalian intestine derived from serial analysis of gene expression and study of the hepatoma-derived growth factor (HDGF). Develop 132(2): 415-427.

Lev R, Spicer SS. 1964. Specilic staining of sulphate groups with Alcian blue at low pH. J Histochem Cytochem 12: 309.

Lewis SL, Tam PPL. 2006. Definitive endoderm of the mouse embryo: formation, cell fates, and morphogenetic function. Dev Dyn 235: 2315–2329.

Ley RE, Peterson DA, Gordon JI. 2006. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. Cell 124: 837–848.

Li J, Song J, Zaytseva YY, Liu Y, Rychahou P, Jiang K, Starr ME, Kim JT, Harris JW, Yiannikouris FB, Katz WS, Nilsson PM, OrhoMelander M, Chen J, Zhu H, Fahrenholz T, Higashi RM, Gao T, Morris AJ, Cassis LA, Fan TW, Weiss HL, Dobner PR, Melander O, Jia J, Evers BM. 2016a. An obligatory role for neurotensin in high-fatdiet-induced obesity. Nature 533(7603): 411–415.

Li J, Song J, Li X, Rock SB, Sinner HF, Weiss HL, Weiss T, Townsend CMJr, Gao T, Evers B M. 2018. FFAR4 is involved in regulation of neurotensin release from neuroendocrine cells and male C57BL/6 mice. Endocrinol 159(8):2939-2952.

Li N, Yousefi M, Nakauka-Ddamba A, Jain R, Tobias J, Epstein JA, Jensen ST, Lengner CJ. 2014. Single-cell analysis of proxy reporter allele-marked epithelial cells establishes intestinal stem cell hierarchy. Stem Cell Rep 3:876–891.

Li N, Nakauka-Ddamba A, Tobias J, Jensen ST, Lengner CJ. 2016b. Mouse label retaining cells are molecularly and functionally distinct from reserve intestinal stem cells. Gastroenterol 151: 298–310.

Li XG, Zhu M, Chen MX, Fan HB, Fu HL, Zhou JY, Zhai ZY, Gao CQ, Yan HC, Wang XQ. 2019. Acute exposure to deoxynivalenol inhibits porcine enteroid activity via suppression of the Wnt/b-catenin pathway. Toxicol Lett 305: 19-31.

Liddle RA. 1998. Cholecystokinin cells. Annu Rev Physiol 60: 221-242.

Liddle RA, Goldfine ID, Rosen MS, Taplitz RA, Williams JA. 1985. Cholecystokinin bioactivity in human plasma. Molecular forms, responses to feeding, and relationship to gallbladder contraction. J Clin Invest 75(4): 1144-1152.

Liebler EM. 1988. Mucosa-associated lymphoid nodules in the large intestine of young calves: a morphological study with special regard to lymphoepithelial relationship and epithelial ultrastructure. MS Thesis, Iowa State University, Ames, IA.

Lilja C, Sperber I, Marks HL. 1985. Postnatal growth and organ development in Japanese quaff selected for high growth rate. Growth 49:51-62.

Linden SK, Sutton P, Karlsson NG, Korolik V, McGuckin MA. 2008. Mucins in the mucosal barrier to infection. Mucosal Immunol 1: 183–197.

Liou AP, Lu X, Sei Y, Zhao X, Pechhold S, Carrero RJ, Raybould HE, Wank S. 2011. The G-protein-coupled receptor GPR40 directly mediates long-chain fatty acid-induced secretion of cholecystokinin. Gastroenterol 140(3): 903-912.

Liquori GE, Mastrodonato M, Mentino D, Scillitani G, Desantis S, Portincasa P, Ferri D. 2012. In situ characterization of O-linked glycans of Muc2 in mouse colon. Acta Histochem 114 (7): 723–732.

Lira MB, Cueva MS, Rodríguez GJ, Ayón SA, Zanuzzi C, Barbeito C, Falcón PN, Vásquez CM. 2012. Identificación de las células de Paneth en el intestino delgado de alpacas en los primeros 21 días de edad. Rev Inv Vet Perú 23(2): 138-146.

Liu X, Lu R, Wu S, Sun J. 2010. *Salmonella* regulation of intestinal stem cells through the Wnt/beta-catenin pathway. *FEBS Lett* 584: 911–916.

Liu J, Liu Z, Gao L, Chen L, Zhang H. 2016. Nutrient-intake-level-dependent regulation of intestinal development in newborn intrauterine growth-restricted piglets via glucagon-like peptide-2. Animal 10(10): 1645-1654.

Llerena L. 1983. Prueba de tolerancia a la glucosa e insulina en alpacas. Libro Resum Proyect Invest Realizadas por la UNMSM, Período 1975-1979, Lima, 2: 31.

Loeffler M, Birke A, Winton D, Potten C. 1993. Somatic mutation, monoclonality and stochastic models of stem cell organization in the intestinal crypt. J Theor Biol 160: 471-491.

Lu W. 2008. Role of Macronutrients in the Regulation and Secretory Mechanisms of Gastrointestinal Hormones, Glucagon-like Peptide-1 (GLP-1) and Glucose-dependent Insulinotropic Polypeptide (GIP), in Lymph. Tesis Doctor in Philosophy in the Department of Molecular and Cellular Physiology of the College of Medicine. Ohio, USA: Division of Research and Advanced Studies of the University of Cincinnati. 168p.

Lucini C, De Girolam P, Coppola G, Paino L, Castaldo L. 1999. Postnatal development of intestinal endocrine cell populations in the water buffalo. J Anat 195: 439-446.

Lüdtke FE, Golenhofen K, Becker HD. 1984. Mechanical activity of isolated human pyloric muscle, in comparison with canine pylorus. In: Roman C. (eds) Gastrointestinal Motility. Springer, Dordrecht, p 87-84

Lv Y, Li X, Zhang L, Shi Y, DU L, Ding B, Hou Y, Gong J, Wu T. 2018. Injury and mechanism of recombinant E. coli expressing STa on piglets colon. J Vet Med Sci 80 (2): 205-212.

Macfarlane S, Woodmansey EJ, Macfarlane GT. 2005. Colonization of mucin by human intestinal bacteria and establishment of biofilm communities in a two-stage continuous culture system. Appl Environ Microbiol 71(11): 7483–7492.

Macpherson AJ, Gatto D, Sainsbury E, Harriman GR, Hengartner H, Zinkernagel RM. 2000. A primitive T cell-independent mechanism of intestinal mucosal IgA responses to commensal bacteria. Science 288: 2222–2226.

Madara JL, Neutra MR, Trier JS. 1981. Junctional complexes in fetal rat small intestine during morphogenesis. Dev Biol 86(1): 170–178.

Magee DF, Naruse S. 1984. The role of motilin in periodic interdigestive pancreatic secretion in dogs. J Physiol (Lond) 355:441-447.

Magwedere K, Mukaratirwa S. 2008. Evaluation of intestinal pH and osmolality levels in rats (Rattus norvegicus) and chickens (Gallus gallus) experimentally infected with Trichinella zimbabwensis. Intern J Appl Res Vet Med 6: 166-174.

Mallow EB, Harris A, Salzman N, Russell JP, DeBerardinis RJ, Ruchelli E, Bevins CL. 1996. Human enteric defensins. Gene structure and developmental expression. J Biol Chem 271(8): 4038-4045.

Malo C. 1988. Kinetic evidence for heterogeneity in Na+-Dglucose cotransport systems in the normal human fetal small intestine. Biochim Biophys Acta 938(2): 181-188.

Malo C. 1990. Separation of two distinct Na+/D-glucose cotransport systems in the human fetal jejunum by means of their differential specificity for 3-O-methylglucose. Biochim Biophys Acta 1022(1): 8-16.

Malo MS, Moaven O, Muhammad N, Biswas B, Alam SN, Economopoulos KP, Gul SS, Hamarneh S R, Malo NS, Teshager A, Mohamed MM, Tao Q, Narisawa S, Millán JL, Hohmann EL, Warren HS, Robson SC, Hodin RS. 2014. Intestinal alkaline phosphatase promotes gut bacterial growth by reducing the concentration of luminal nucleotide triphosphates. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 306(10): G826–G838.

Mantani Y, Kamezaki A, Udayanga KGS, Takahara E, Qi W-M, Kawano J, Yokoyama T, Hoshi N, Kitagawa H. 2011. Site differences of Toll-like receptor expression in the mucous epithelium of rat small intestine. Histol Histopathol 26: 1295-1303.

Mantani Y, Nishida M, Yuasa H, Yamamoto K, Takahara E, Omotehara T, Udayanga KGS, Kawano J, Yokoyama T, Hoshi N, Kitagawa H. 2014. Ultrastructural and histochemical study on the Paneth cells in the rat ascending colon. Anat Rec 297: 1462-1471.

Mantani Y, Nishida M, Yamamoto K, Miyamoto K, Yuasa H, Masuda N, Omotehara T, Tsuruta H, Yokoyama T, Hoshi N, Kitagawa H. 2018. Ultrastructural and immunohistochemical study on the lamina propria cells beneath paneth cells in the rat ileum. Anat Rec 301(6): 1074–1085.

Marcilese NA, Ghezzi MD, Aba MA, Alzola RA. 1994. Physiological studies in the South American camelid llama (Lama guanicoe f. d. glama). I. Body water spaces and water turnover. Acta Physiol Pharmacol Ther Latin 44: 36-42.

Maret W. 2013. Zinc biochemistry: from a single zinc enzyme to a key element of life. Adv Nutr 4: 82-91.

Mari A, Schmitz O, Gastaldelli A, Oestergaard T, Nyholm B, Ferrannini E. 2002. Meal and oral glucose tests for assessment of beta -cell function: modeling analysis in normal subjects. Am J Physiol Endocrinol Metab 283(6): E1159-E1166.

Mariadason JM, Arango D, Shi Q, Wilson AJ, Corner GA, Nicholas C, Aranes MJ, Lesser M, Schwartz EL, Augenlicht LH. 2003. Gene expression profiling-based prediction of response of colon carcinoma cells to 5-fluorouracil and camptothecin. Cancer Res 63(24): 8791-8812.

Mariotta L, Ramadan T, Singer D, Guetg A, Herzog B, Stoeger C, Palacín M, Lahoutte T, Camargo SM, Verrey F. 2012. T-type amino acid transporter TAT1 (Slc16a10) is essential for extracellular aromatic amino acid homeostasis control. J Physiol 590(24): 6413-6424.

Marnerides A, Ghazi S, Sundberg A, Papadogiannakis N. 2012. Development of fetal intestinal length during 2nd-trimester in normal and pathologic pregnancies. Pediatr Dev Pathol 15(1): 24-29.

Márquez SG, Galotta JM, Portiansky EL, Barbeito CG. 2006. Characterization of interstitial cells of Cajal in bowel of cattle (Bos taurus). Vet Res Commun 30(3): 221-229.

Márquez SG, Galotta JM, Gálvez GA, Portiansky EL, Barbeito CG. 2014. Presence of c-kit positive cells in fetal and adult bovine forestomachs. Biotech Histochem 89(8): 591-601.

Marreiro DDN, Cruz KJC, Morais JBS, Beserra JB, Severo JS, de Oliveira ARS. 2017. Zinc and oxidative stress: current mechanisms. Antioxidants 6: 24-32.

Marshall BJ, Langton SR. 1986. Urea hydrolysis in patients with Campylobacter pyloridis infection. Lancet 1(8487): 965-966.

Martin BE. 1954. Serous cells in Brunner's glands of the rabbit. Nature 174: 1195-1196.

Martín C, Pinto C, Cid M. 2010. Camélidos sudamericanos: Estado sanitario de sus crías Dpto. Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid Revista Complutense de Ciencias Veterinarias 4(1): 3750

Martin K, Kirkwood TB, Potten CS. 1998. Age changes in stem cells of murine small intestinal crypts. Exp Cell Res 241: 316-323.

Martínez D, Camacho J, Villanueva I, Becerril A. 2009. Cambios morfológicos producidos por el estrés sobre la población de células de Paneth. Rev Hosp Gen Mex 72(3): 129-135.

Martínez D, Perales R, Vílchez C. 2017. Caracterización histológica del intestino de pollos de carne empleando nuevos indicadores morfométricos. En: IX Seminario Internacional AMEVEA, VII Encuentro Científico y VIII Expo AMEVEA, Lima, Perú.

Martins P, Fakhry J, Chaves de Oliveira E, Hunne B, Fothergill LJ, Ringuet M, d'Ávila Reis D, Rehfeld JF, Callaghan B, Furness JB. 2017. Analysis of eneteroendocrine cell populations in the human colon. Cell Tissue Res 367: 361–368

Massone AR, Itagaki S, Koi K, Gimeno EJ. 1991. Lectinhistochemical study on normal and paratuberculosis - affected bovine ileum. J Vet Med Sci 53(4): 761-763.

Masty J, Stradley RP. 1991. Paneth cell degranulation and lysozyme secretion during acute equine alimentary laminitis. Histochem 95(5): 529–533.

Masyuk AI, Marinelli RA, LaRusso NF. 2002. Water transport by epithelia of the digestive tract. Gastroenterol 122(2): 545-562.

Mathan M, Moxey PC, Trier JS. 1976. Morphogenesis of fetal rat duodenal villi. Am J Anat 146(1): 73–92.

Matsumoto A, Hashimoto K, Yoshioka T, Otani H. 2002. Occlusion and subsequent re-canalization in early duodenal development of human embryos: integrated organogenesis and histogenesis through a possible epithelial-mesenchymal interaction. Anat Embryol (Berl) 205(1): 53–65.

Matsumoto K, Takao Y, Akazawa S, Yano M, Uotani S, Kawasaki E, Takino H, Yamasaki H, Okuno S, Yamaguchi Y. 1993. Developmental change of facilitative glucose transporter

expression in rat embryonal and fetal intestine. Biochem Biophys Res Commun 193(3): 1275-1282.

Mazella J, B´eraud-Dufour S, Devader C, Massa F, Coppola T. 2012. Neurotensin and its receptors in the control of glucose homeostasis. Front Endocrinol (Lausanne) 3: 143.

Mazzone A, Farrugia G. 2007. Evolving concepts in the cellular control of gastrointestinal motility neurogastroenterology and enteric sciences. Gastroenterol Clin N Am 36: 499–513.

McAvoy JW, Dixon KE. 1978. Cell specialization in the small intestinal epithelium of adult Xenopus laevis: structural aspects. J Anat 125 (1): 155–169.

McCarthy N, Elisa Manieri E, Storm EE, Saadatpour A, Luoma AM, Kapoor VN, Madha S, Gaynor LT, Cox C, Keerthivasan S, Wucherpfennig K, Yuan G-Ch, de Sauvage FJ, Turley SJ, Shivdasani RA. 2020. Distinct mesenchymal cell populations generate the essential intestinal bmp signaling gradient. Cell Stem Cell 26: 1–12.

Mccauley H, Guasch G. 2015. Three cheers for the goblet cell: maintaining homeostasis in mucosal epithelia. Trends Mol Med 21(8): 492-503.

McGhee JR, Fujihashi K. 2012. Inside the mucosal immune system. PLoS Biol 10(9): e1001397.

McKinley ET, Sui Y, Al-Kofahi Y, Millis BA, Tyska MJ, Roland JT, Santamaria-Pang A, Ohland CL, Jobin C, Franklin JL, Lau KS, Gerdes MJ, Coffey RJ. 2017. Optimized multiplex immunofluorescence single-cell analysis reveals tuft cell heterogeneity. JCI Insight 2(11): e93487.

McLin VA, Henning S J, Jamrich M. 2009. The role of the visceral mesoderm in the development of the gastrointestinal tract. Gastroenterol 136(7): 2074-2091.

McNeil NI, Ling KL, Wager J. 1987. Mucosal surface pH of the large intestine of the rat and of normal and inflamed larged intestine in man. Gut 28: 707-713.

Meier C, Camargo SM, Hunziker S, Moehrlen U, Gros SJ, Bode P, Leu S, Meuli M, Holland-Cunz S, Verrey F, Vuille-dit-Bille RN. 2018. Intestinal IMINO transporter SIT1 is not expressed in human newborns. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 315: G887–G895.

Menard D, Calvert R. 1991. Fetal and postnatal development of the small and large intestine: patterns and regulation. En: Growth of the Gastrointestinal Tract: Gastrointestinal Hormones

and Growth Factors. Edited by Morisset J and Solomon TE. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, p 159–174.

Mendoza G, Echevarría L, Llerena C, Castro A, Domínguez M, Gómez S, Ghezzi M, Barbeito C. 2013. Comparación morfológica entre el útero fetal y el útero adulto de la alpaca (Vicugna pacos) y la llama (Lama glama). Salud Tec Vet 1: 1-6.

Merchenthaler, Lane M, Shughrue P. 1999. Distribution of pre-pro-glucagon and glucagon-like peptide-1 receptor messenger rnas in the rat central nervous system. J Comp Neurol 403(2): 261-280.

Mestecky J. 2005. Mucosal Immunology. 3ra edición, Amsterdam, Boston: Elsevier Academic Press. 2064p.

Mestecky J, Russell MW, Elson CO. 1999. Intestinal IgA: novel views on its function in the defence of the largest mucosal surface. Gut 44(1): 2–5.

MINAGRI. 2019. Potencial Productivo y Comercial de la Alpaca. Dirección General de Políticas Agrarias, Dirección de Estudios Económicos e Información Agraria. http://minagri.gob.pe/portal/analisis-economico/analisis-2019?download=16050:potencial-productivo-y-comercial-de-la-alpaca.

Miner-Williams WM, Stevens BR, Moughan PJ. 2014. Are intact peptides absorbed from the healthy gut in the adult human?. Nutr Res Rev 27: 308–329

Mitznegg P, Bloom SR, Domschke W, Haecki WH, Domschke S, Belohlavek D, Wünsch E, Demling L. 1977. Effect of secretin on plasma motilin in man. Gut 18(6): 468-471.

Miyawaki K, Yamada Y, Ban N, Ihara Y, Tsukiyama K, Zhou H, Fujimoto S, Oku A, Tsuda K, Toyokuni S, Hiai H, Mizunoya W, Fushiki T, Holst JJ, Makino M, Tashita A, Kobara Y, Tsubamoto Y, Jinnouchi T, Jomori T, Seino Y. 2002. Inhibition of gastric inhibitory polypeptide signaling prevents obesity. Nat Med 8: 738–742.

Miyoshi E, Noda K, Yamaguchi Y, Inoue S, Ikeda Y, Wang W, Ko JH, Uozumi N, Li W, Taniguchi N. 1999. The alpha1-6-fucosyltransferase gene and its biological significance. Biochim Biophys Acta 1473(1): 9-20.

Modlin I, Kidd M, Pfragner R, Eick GN, Champaneria MC. 2006. The functional characterization of normal and neoplastic human enterochromaffin cells. J Clin Endocrinol Metab 91: 2340–2348.

Montalvo AC. 1966. Contribución al estudio de la morfología de la alpaca (Lama pacos). Estudio histológico e histoquímico del intestino. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Montgomery RK, Mulberg AE, Grand RJ. 1999. Development of the human gastrointestinal tract: twenty years of progress. Gastroenterology 1116 (3): 702-731.

Morales S, Paredes D, Pezo D. 2007. Asociación de rotavirus y Escherichia coli fimbriada como agentes causales de infecciones entéricas en alpacas neonatas. Rev Inv Vet Perú 18(2): 150-153.

More J, Fioramonti J, Benazet F, Bueno L. 1987. Histochemical characterization of glycoproteins present in jejunal and colonic goblet cells of pigs on different diets. A biopsy study using chemical methods and peroxidase-labelled lectins. Histochemistry 87(2): 189-194.

More J, Manchego A, Sandoval N. Ramirez M, Pezo D, Chiok K, Rivera H. 2011. Detección genómica y expresión de péptidos antimicrobianos (αy βdefensinas) en mucosa intestinal de crías de alpaca (Vicugna pacos). Rev Inv Vet Perú 22: 324-335.

Moro M. 1956. Contribución al estudio de las enfermedades de los auquénidos. Rev Fac Med Vet, UNMSM, Lima 7-11: 5-116.

Moro M. 1987. Enfermedades infecciosas de las alpacas. Revista de Camélidos Sudamericanos 5: 7-31.

Morrissey SM, Tymvios MC. 1978. Acid mucins in human intestinal goblet cells. J Pathol 126(4): 197-208.

Mortensen K, Christensen LL, Holst JJ, Orskov C. 2003. GLP-1 and GIP are colocalized in a subset of endocrine cells in the small intestine. Regul Pept 114: 189-196.

Moss CE, Marsh WJ, Parker HE, Ogunnowo-Bada E, Riches CH, Habib AM, Evans ML, Gribble FM, Reimann F. 2012. Somatostatin receptor 5 and cannabinoid receptor 1 activation inhibit secretion of glucose-dependent insulinotropic polypeptide from intestinal K cells in rodents. Diabetologia 55: 3094-3103.

Moxey PC, Trier JS. 1978. Specialized cell types in the human fetal small intestine. Anat Rec 191(3): 269-85.

Müller TD, Finan B, Bloom SR, D'Alessio D, Drucker DJ, Flatt PR, Fritsche A, Gribble F, Grill HJ, Habener JF, Holst JJ, Langhans W, Meier JJ, Nauck MA, Perez-Tilve D, Pocai A, Reimann F, Sandoval DA, Schwartz TW, Seeley RJ, Stemmer K, Tang-Christensen M, Woods SC, DiMarchi RD, Tschöp MH. 2019. Glucagon-like peptide 1 (GLP-1). Mol Metab 30: 72-130.

Murakami H, Akiba Y, Horiguchi M. 1992. Growth and utilization of nutrients in newly-hatched chicks with or without removal of residual yolk. Growth Dev Aging 56:75-84.

Murakami M, Saita H, Teramura S, Dekigai H, Asagoe K, Kusaka S, Kita T. 1993. Gastric ammonia has a potent ulcerogenic action on the rat stomach. Gastroenterol 105(6): 1710-1715.

Murer H, Hopfer U, Kinne R. 1976. Sodium/proton antiport in brush-bordermembrane vesicles isolated from rat small intestine and kidney. Biochem J 154: 597-604

Murray RK, Mayes PA, Granner DK, Rodwell VW. 2001. Bioquímica de Harper, 15ª edición, Ed El Manual Moderno, México, DF. 1042p.

Mustain WC, Rychahou PG, Evers BM. 2011. The role of neurotensin in physiologic and pathologic processes. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes 18: 75–82.

Mustata RC, Vasile G, Fernandez-Vallone V, Strollo S, Lefort A, Libert F, Monteyne D, Pérez-Morga D, Vassart G, Garcia MI. 2013. Identification of Lgr5-independent spheroid-generating progenitors of the mouse fetal intestinal epithelium Cell Rep 31: 5(2): 421-432.

Nässel DR, Wegener C. 2011. A comparative review of short and long neuropeptide F signaling in invertebrates: Any similarities to vertebrate neuropeptide Y signaling? Peptides 32(6): 1335-1355.

Neal JV, Potten CS. 1981. Description and basic cell kinetics of the murine pericryptal fibroblast sheath. Gut 22(1):19-24.

Neutra MR, O'Malley LJ, Specian RD. 1982. Regulation of intestinal goblet cell secretion. II. A survey of potentid secretugogues. Am J Physiol Gastroint Liver Physiol. 242 (4): G380–G387.

Neutra MR, Phillips TL, Phillips TE. 1984. Regulation of intestinal goblet cells in situ, in mucosal explants and in the isolated epithelium. Ciba Found Symp.1 09:20-39.

Nevalainen TJ. 1977. Ultrastructural characteristics of tuft cells in mouse gallbladder epithelium. Acta Anat (Basel) 98: 210-220.

Neverisky DL, Abbott GW. 2015. Ion channel-transporter interactions. Crit Rev Biochem Mol Biol 51(4):257-267

Niinikoski H, Stoll B, Guan X, Kansagra K, Lambert BD, Stephens J, Hartmann B, Holst JJ, Burrin DG. 2004. Onset of Small Intestinal Atrophy Is Associated with Reduced Intestinal Blood Flow in TPN-Fed Neonatal Piglets. J Nutr 134(6): 1467-1474.

Nilsson CL. 2007. Lectins: Analytical Technologies. Elsevier B.V. Oxford, UK. p 1-13.

Nilsson HE, Ambort D, Bäckström M, Thomsson E, Koeck PJB, Hansson GC, Hebert H. 2014. Intestinal MUC2 mucin supramolecular topology by packing and releáse resting on D3 assembly. J Mol Biol 426: 2567-2579.

Nilsson O, Bilchik AJ, Goldenring JR, Ballantyne GH, Adrian TE, Modlin IM. 1991. Distribution and immunocytochemical colocalization of peptide YY and enteroglucagon in endocrine cells of the rabbit colon. Endocrinol 129(1): 139-148.

Noah TK, Donahue B, Shroyer NF. 2011. Intestinal development and differentiation. Exp Cell Res 317(19): 2702–2710.

Nolte M, Kotze A, Van der Bank FH, Grobler JP. 2005. Microsatellite markers reveal low genetic differentiation among southern African Camelus dromedarius populations. South African J Anim Sci 35(3): 152-161.

Norden C. 2017. Pseudostratified epithelia - cell biology, diversity and roles in organ formation at a glance. J Cell Sci 130(11): 1859–1863.

Noy Y, Sklan D. 1998a. Digestion and absorption in the young chick. Poult Sci 74(2): 366-373.

Noy Y, Sklan D. 1998b. Metabolic responses to early nutrition. J Applied Poult Res 7: 437-451.

Nozawa K, Kawabata-Shoda E, Doihara H, Kojima R, Okada H, Mochizuki S, Sano Y, Inamura K, Matsushime H, Koizumi T, Yokoyama T, Ito H. 2009. TRPA1 regulates gastrointestinal motility through serotonin release from enterochromaffin cells. PNAS 106: 3408-3413.

Oblitas F, Pedrozo R, Wittwer F, Böhmwald H, Ludwig H. 1998. Valores sanguíneos en alpacas (Lama pacos) reintroducidas en el sur de Chile. Vet Mex 29(4): 411-414.

Ochoa-Hernández A, Juárez-Vázquez CI, Rosales-Reynoso MA, Barros-Núñez P. 2012. La vía de señalización Wnt-β-catenina y su relación con cáncer. Cirugía y Cirujanos 80 (4): 389-398.

Okamoto K, Hanazaki K, Akimori T, Okabayashi T, Okada T, Kobayashi M, Ogata T. 2008. Immunohistochemical and electron microscopic characterization of brush cells of the rat cecum. Med Mol Morphol 41: 145–150.

O'Leary AD, Sweeney EC. 1987. Lymphoglandular complexes in the diseased colon. Ir J Med Sci 156: 353-360.

Oliveira ER, da Silva CA; Pardo Lozano A, Olegário da Silva E, Novais AK, Fernandes D, Pereira M, Frederico G, Castro-Gómez RJH, Calliari CM. 2017. Chitooligosaccharide for piglets: effects on performance, viscera and intestinal morphometry. Semina: Ciênc Agr, Londrina 38 (4): 2727-2742.

Olsson C, Holmgren S. 2001. The control of gut motility. Comp Biochem Physiol A 128: 481-503.

Oltmer S, Von Engelhard W. 1994. Absorption of short-chain fatty acids from the in-situ-erfused caecum and colon of the guinea pig. Scand J Gastroenterol 29: 1009-1016.

Olvera-Granados CP, Leo-Amador GE, Hernández-Montiel HL. 2008. Páncreas y células beta: mecanismos de diferenciación, morfogénesis y especificación celular endocrina. ¿Regeneración?. Bol Méd Hosp Inf Méx 65(4): 306-324.

Ontsouka EC, Albrecht C, Bruckmaier RM. 2016. Invited review: Growth-promoting effects of colostrum in calves based on interaction with intestinal cell surface receptors and receptor-like transporters. J Dairy Sci 99(6): 4111-4123.

Orian-Rousseau V, Aberdam D, Fontao L, Chevalier L, Meneguzzi G, Kedinger M, Simon-Assmann P. 1996. Developmental expression of laminin-5 and HD1 in the intestine: epithelial to mesenchymal shift for the laminin gamma-2 chain subunit deposition. Dev Dyn 206(1): 12-23.

Ormsbee HS, Fondacaro JD. 1985. Action of serotonin on the gastrointestinal tract. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine 178(3): 333–338.

Orloff SL, Bunnett NW, Walsh JH, Debas HT. 1992. Intestinal acid inhibits gastric acid secretion by neural and hormonal mechanisms in rats. Am J Physiol 262: G165-G170.

Ortiz C, Cavero J, Sillau H, Cueva S. 1974. The parotid saliva of the alpaca (Lama pacos). Res Vet Sci 16: 54-56.

Osnes M, Hanssen LE, Flaten O, Myren J. 1978. Exocrine pancreatic secretion and immunoreactive secretin (IRS) release after intraduodenal instillation of bile in man. Gut 19(3): 180-184.

Otto HF. 1973. The intestinal Paneth cell cytomorphology, ultrastructuralpathology and function. A contribution to the lysozyme theory (author's transl). Veroff Morphol Pathol 94: 1–75.

Ouellette AJ. 2005. Paneth cell alpha-defensins: peptide mediators of innate immunity in the small intestine. Spring Semin Immunopathol 27:133-146.

Ouellette AJ, Satchell DP, Hsieh MM, Hagen SJ, Selsted ME. 2000. Characterization of luminal Paneth cell alpha-defensins in mouse small intestine: Attenuated antimicrobial activities of peptides with truncated amino termini. J Biol Chem 275(43): 33969-33973.

Ouellette AJ, Selsted ME. 1996. Paneth cell defensins: endogenous peptide components of intestinal host defense. FASEB J 10: 1280-1289.

Owyang C. 1996. Physiological mechanisms of cholecystokinin action on pancreatic secretion. Am J Physiol 271: G1–G7.

Pace JL, Williams I. 1969. Organization of the muscular wall ofthe human colon. Gut 10: 352-359.

Pácha J. 2000. Development of intestinal transport function in mammals. Physiol Rev 80(4): 1633-1667.

Pacheco AR, Sperandio V. 2015. Enteric Pathogens Exploit the Microbiota-generated Nutritional Environment of the Gut. Microbiol Spectr 3(3):10.1128/microbiolspec.MBP-0001-2014.

Palacios C, Tabacchi L, Chavera A, López T, Santillán G, Sandoval N, Pezo D, Perales R. 2004. Eimeriosis en crías de alpacas: estudio anátomo histopatológico. Rev Inv Vet Perú 15(2): 174-178.

Palacios C, Perales R, Chavera A, López T. 2005. Caracterización anátomo-histopatológica de enteropatías causantes de mortalidad en crías de alpaca. Rev Inv Vet Perú 16(1): 34-40.

Palazzo M, Balsari A, Rossini A, Selleri S, Calcaterra C, Gariboldi S, Zanobbio L, Arnaboldi F, Shirai YF, Serrao G, Rumio C. 2007. Activation of enteroendocrine cells via TLRs induces hormone, chemokyne and, defensine secretion. J Immunol 178(7): 4296-4303.

Paredes ME. 2010. Relación de Medidas Biométricas y el desarrollo macroscópico del intestino de la cría de alpaca (Vicugna pacos). Tesis para optar título profesional de Médico Veterinario, FMV, UNMSM, 56p.

Parker HE, Habib AM, Rogers GJ, Gribble FM, Reimann F. 2009. Nutrient-dependent secretion of glucose-dependent insulinotropic polypeptide from primary murine K cells. Diabetologia 52 (2): 289–298.

Pascual S, Martinez J, Pérez-Mateo M. 2001. The intestinal barrier: Functional disorders in digestive and non-digestive diseases. Gastroenterol Heaptol 24: 256-267.

Paulsen DB, Buddington KK, Buddington RK. 2003. Dimensions and histologic characteristics of the small intestine of dogs during postnatal development. Am J Vet Res 64(5): 618-626.

Paulson JC, Colley KJ. 1989. Glycosyltransferases. Structure, localization, and control of cell type-specific glycosylation. J Biol Chem 264:17615–17622.

Peeters T, Vantrappen G. 1975. The Paneth cell: A source of intestinal lysozyme. Gut 16: 553–558.

Peignon G, Durand A, Cacheux W, Ayrault O, Terris B, Laurent-Puig P, Shroyer NF, Van Seuningen I, Honjo T, Perret C, Romagnolo B. 2011. Complex interplay between beta-catenin signalling and Notch effectors in intestinal tumorigenesis. Gut 60: 166-176.

Pelaseyed T, Bergstrom JH, Gustafsson JK, Ermund A, Birchenough GM, Schutte A, van der Post S, Svensson F, Rodriguez-Pineiro AM, Nystrom EE, Wising C, Johansson ME, Hansson GC. 2014. The mucus and mucins of the goblet cells and enterocytes provide the

first defense line of the gastrointestinal tract and interact with the immune system. Immunol Rev 260: 8-20.

Pelaseyed T, Hansson GC. 2020. Membrane mucins of the intestine at a glance. J Cell Sci 133(5): jcs240929.

Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, van den Brandt PA, Stobberingh EE. 2006. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. Pediatrics 118(2): 511-521.

Penman E, Wass JA, Butler MG, Penny ES, Price J, Wu P, Rees LH. 1983. Distribution and characterisation of immunoreactive somatostatin in human gastrointestinal tract. Regul Pept 7(1): 53-65.

Picha Y, Tibary A, Memon M, Kasimanickam R, Sumar J. 2013. Chronology of early embryonic development and embryo uterine migration in alpacas. Theriogenology 79: 702–708.

Pickard JM, Chervonsky AV. 2015. Intestinal fucose as a mediator of host–microbe symbiosis. J Immunol 194: 5588– 5593.

Pingitore P, Pochini L, Scalise M, Galluccio M, Hedfalk K, Indiveri C. 2013. Large scale production of the active human ASCT2 (SLC1A5) transporter in Pichia pastoris–functional and kinetic asymmetry revealed in proteoliposomes. Biochim Biophys Acta 1828: 2238–2246.

Pinheiro DF, Pinheiro PF, Buratini J Jr, Castilho AC, Lima PF, Trinca LA, Vicentini-Paulino Mde L. 2013. Maternal protein restriction during pregnancy affects gene expression and immunolocalization of intestinal nutrient transporters in rats. Clin Sci (Lond) 125(6): 281-289.

Pinto D, Gregorieff A, Begthel H, Clevers H. 2003. Canonical Wnt signals are essential for homeostasis of the intestinal epithelium. Genes Dev 17 (14): 1709-1713.

Piñols C. 1999. Estudio de los cambios en la mucosa colónica de rata y cinética celular durante la carcinogénesis experimental inducida con 1,2-Dimetilhidracina. Tesis Doctoral. Universidad de Lleida. España.

Pitha J. 1968. The fine structure of membranous inclusions in the Paneth cells of rabbit. Z Zellforsch Mikrosk Anat 90(4): 563-569.

Pitkin RM, Reynolds WA. 1975. Fetal ingestion and metabolism of amniotic fluid protein. Am J Obstet Gynecol 123(4): 356-363.

Plaul SE, Barbeito CG, Díaz AO. 2016. Histochemical differences along the intestine of Corydoras paleatus (*Siluriformes: Callichthyidae*). Rev Biol Trop 64(1): 327-340.

Pluske JR, Williams IH, Aherne FX. 1996a. Maintenance of villus height and crypt depth in piglets by providing continuous nutrition after weaning. Anim Sci 62: 131-144.

Pluske JR, Williams IH, Ahern FX. 1996b. Villus height and crypt depth in piglets in response to increases in the intake of cows' milk after weaning. Anim Sci 62: 145-158.

Poindexter BJ, Klein GL, Milner SM, Bick RJ. 2009. Upregulation of Defensins in Burn Sheep Small Intestine. Eplasty 10: e6.

Polak JM, Bloom SR, Kuzio M, Brown JC, Pearse AG. 1973. Cellular localization of gastric inhibitory polypeptide in the duodenum and jejunum. Gut 14(4): 284-288.

Polak JM, Bloom SR, Rayford PL, Pearse AG, Buchan AM, Thompson JC. 1975. Identification of cholecystokinin-secreting cells. Lancet 2(7943): 1016-1018.

Porter EM, Bevins CL, Ghosh D, Ganz T. 2002. The multifaceted Paneth cell. Cell 59: 156–170.

Porter EM, Liu L, Oren A, Anton PA, Ganz T. 1997a. Localization of human intestinal defensin 5 in Paneth cell granules. Infect Immun 65: 2389-2395.

Porter EM, van Dam E, Valore EV, Ganz T. 1997b. Broad-spectrum antimicrobial activity of human intestinal defensin 5. Infect Immun 65: 2396-2401.

Portiansky EL. 2005. Procesamiento y análisis de imágenes: de los ojos al microchip. 2- Aplicación a la técnica colorimétricas/inmunocolorimétricas. En: Manual del Decimoséptimo Curso Internacional de Posgrado en Técnicas de Inmunohistoquímica, Lectínhistoquímica y Microscopía Electrónica. Instituto de Patología Dr B Epstein y Servicio Central de Microscopía Electrónica Dr S I Itagaki, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, p 60-65.

Potten CS. 1991. Regeneration in epithelial proliferative units as exemplified by small intestinal crypts. Ciba Found Symp 160: 54-71.

Potten CS. 1998. Stem cells in gastrointestinal epithelium: numbers, characteristics and death. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 353: 821-830.

Potten CS. 2000. Gut instincts: thougths on intestinal epithelial stem cells. J Clin Invest 105(11): 1493-1499.

Potten CS, Loeffler M. 1990. Stem Cells: Attributes, cycles, spirals, pitfalls and uncertainties. Lessons for and from the crypt. Development 110(4): 1001-1020.

Potten CS, Kovacs L, Hamilton E. 1974. Continuous labelling studies on mouse skin and intestine. Cell Tissue Kinet 7: 271–283.

Powell DW, Mifflin RC, Valentich JD, Crowe SE, Saada JI, West AB. 1999a. Myofibroblasts I. Paracrine cells important in health and disease. Am J Physiol 277(1 Pt1): 1-9.

Powell DW, Mifflin RC, Valentich JD, Crowe SE, Saada JI, West AB. 1999b. Myofibroblasts II. Intestinal subepithelial myofibroblasts. Am J Physiol 277(1 Pt1): 183-201.

Precup G, Vodnar DC. 2019. Gut Prevotella as a possible biomarker of diet and its eubiotic versus dysbiotic roles: a comprehensive literature review. Br J Nutr 122(2): 131-140.

Puchal AA, Buddington RK. 1992. Postnatal development of monosaccharide transport in pig intestine. Am J Physiol 262 (5 Pt 1): G895-G902.

Qi Z, Li Y, Zhao B, Xu C, Liu Y, Li H, Zhang B, Wang X, Yang X, Xie W, Li B, Han JDJ, Chen YG. 2017. BMP restricts stemness of intestinal Lgr5(+) stem cells by directly suppressing their signature genes. Nat Commun 8: 13824.

Qian D, Jones C, Rzadzinska A, Mark S, Zhang X, Steel KP, Dai X, Chen P. 2007. Wnt5a functions in planar cell polarity regulation in mice. Dev Biol 306 (1): 121–133.

Qin X, Caputo FJ, Xu DZ, Deitch EA. 2008. Hydrophobicity of mucosal surface and its relationship to gut barrier function. Shock 29: 372-376.

Quaroni A. 1985a. Development of fetal rat intestine in organ and monolayer culture. J Cell Biol 100(5): 1611-1622.

Quaroni A. 1985b. Pre- and postnatal development of differentiated functions in rat intestinal epithelial cells. Dev Biol 111(2): 280-292.

Quispe EC, Rodríguez TC, Iñiguez LR, Mueller JP. 2009. Producción de fibra de alpaca, llama, vicuña y guanaco en Sudamérica. Anim Gen Res Inf 49: 1-14.

Ramadan T, Camargo SMR, Summa V, Hunziker P, Chesnov S, Pos KM, Verrey F. 2006. Basolateral aromatic amino acid transporter TAT1 (Slc16a10) functions as an efflux pathway. J Cell Physiol 206: 771-779.

Ramírez A. 1989. Enfermedades infecciosas en camélidos sudamericanos. XII reunión científica anual de la asociación Peruana de Producción animal, p 85-105.

Ramírez A. 1990. Avances sobre investigación en salud animal-camélidos sudamericanos. Boletín de divulgación del Instituto Veterinario de Investigación Tropicales y de Altura (IVITA) UNMSMS. Lima, Perú, 23: 11-19.

Ramírez A, Ellis R, Sumar J, Leyva V. 1985. E. Coli enteropatógena en alpacas neonatales: Aislamiento de intestino delgado y su inoculación oral. Resúmenes V Conv Inter sobre Cam Sud Cusco, Perú. p 34.

Ramiro-Puig E, Pérez-Cano FJ, Castellote C, Franch A, Castell M. 2008. El intestino: pieza clave del sistema inmunitario. Rev Esp Enf Dig (Madrid) 100(1): 29-34.

Rao CV, Janakiram NB, Mohammed A. 2017. Molecular pathways: mucins and drug delivery in cancer. Clin Cancer Res 23: 1373-1378.

Ratner C, Hundahl C, Holst B. 2016. The metabolic actions of neurotensin secreted from the gut. Cardiov Endocrinol 5(3): 102-111.

Ratto MH, Huanca W, Singh J, Adams GP. 2005. Local versus systemic effect of ovulation-inducing factor in the seminal plasma of alpacas. Reprod Biol Endocrinol 3: 29.

Reasbeck PG, Barbezat GO, Shulkes A, Leader J. 1984. Secretion of neurotensin and its effects on the jejunum in the dog. Gastroenterology 86(6): 1552-1556.

Rechkemmer G. 1991. The gastrointestinal system, transport of weak electrolytes. En: Handbook of physiology. New York: Oxford University Press. p 371-388.

Rehfeld J. 1998. The New Biology of Gastrointestinal Hormones. Physiol Rev 78: 1087-1108.

Rehfeld JF, Friis-Hansen L, Goetze JP, Hansen TVO. 2007. The biology of cholecystokinin and gastrin peptides. Curr Top Med Chem 7: 1154-1165.

Reimann F, Habib AM, Tolhurst G, Parker HE, Rogers GJ, Gribble FM. 2008. Glucose sensing in L cells: a primary cell study. Cell Metab 8: 532–539.

Reimann F, Tolhurst G, Gribble FM. 2012. G-protein-coupled receptors in intestinal chemosensation. Cell Metab 15(4): 421-431.

Ren X, Mi J, Jia H, Gao H, Bai Y, Wang W. 2015. Reduced Wnt3a expression correlates with poor development of the hindgut in rats with anorectal malformations. Exp Mol Pathol 99: 81-85.

Renz H, Brandtzaeg P, Hornef M. 2012. The impact of perinatal immune development on mucosal homeostasis and chronic inflammation. Nat Rev Immunol 12: 9-23.

Reynaud Y, Fakhry J, Fothergill L, Callaghan B, Ringuet MT, Hunne B, Bravo DM, Furness JB. 2016. The chemical coding of 5- hydroxytryptamine containing enteroendocrine cells in the mouse gastrointestinal tract. Cell Tissue Res 364: 489–497.

Richmond CA, Shah MS, Deary LT, Trotier DC, Thomas H, Ambruzs DM, Jiang L, Whiles BB, Rickner HD, Montgomery RK, Tovaglieri A, Carlone DL, Breault DT. 2015. Dormant intestinal stem cells are regulated by PTEN and nutritional status. Cell Rep 13: 2403–2411.

Riganti JG, Massone AR, Quiroga MJ, Armocida AD, Perfumo CJ. 1997. Lectinhistochemical Binding Profile of Ileum Samples from Pigs affected with Proliferative Enteropathies. Rev Med Vet 78: 69-72.

Rindi G, Leiter AB, Kopin AS, Bordi C, Solcia E. 2004. The ‘‘normal’’ endocrine cell of the gut: Changing concepts and new evidences. Ann N Y Acad Sci 1014: 1-12.

Rings EH, De Boer PA, Moorman AF, Van Beers EH, Dekker J, Montgomery RK, Grand RJ, Buller HA. 1992. Lactase gene expression during early development of rat small intestine. Gastroenterol 103(4): 1154–1161.

Rizvi AZ, Wong MH. 2005. Epithelial stem cells and their niche: There`s no place like home. Stem Cells 23(2): 150-165.

Roa I, Meruane M. 2012. Desarrollo del Aparato Digestivo. Int J Morphol 30(4): 1285-1294.

Roca L V, Manchego S A, Sandoval C N, Chiok C KL, Rivera G H. 2014. Caracterización histológica y dinámica linfoide de las placas de Peyer en crías de alpaca durante los 45 primeros días de vida. Rev Inv Vet Perú 25(3): 341-349.

Röder PV, Geillinger KE, Zietek TS, Thorens B, Koepsell H, Daniel H. 2014. The role of SGLT1 and GLUT2 in intes tinal glucose transportand sensing. PLoS ONE 9(2): e89977.

Rodning CB, Wilson ID, Erlandsen SL. 1976. Immunoglobulins within human small-intestinal Paneth cells. Lancet 1(7967): 984-987.

Rodning CB, Erlandsen SL, Wilson ID, Carpenter AM. 1982. Light microscopic morphometric analysis of rat ileal mucosa: II. Component quantification of Paneth cells. Anat Rec 204: 33-38.

Rodríguez J, Barrios-Arpi M, López-Torres B, Rodríguez A, Revuelta L. 2016. Relación entre los valores bioquímicos séricos fetal y maternal en alpacas. Rev Inv Vet Perú 27(3): 467-474.

Rodríguez J, Cueva S, Lira B, Espinoza J, Vásquez M. 2012. Identificación inmunohistoquímica de transportadores de glucosa intestinal y absorción de glucosa durante el desarrollo y maduración del intestino delgado de crías de alpacas. Rev Inv Vet Perú 23(2): 126-137.

Roffler B, Fäh A, Sauter SN, Hammon HM, Gallmann P, Brem G, Blum JW. 2003. Intestinal morphology, epithelial cell proliferation, and absorptive capacity in neonatal calves fed milk-born insulin-like growth factor-I or a colostrum extract. J Dairy Sci 86(5): 1797-1806.

Romeo E, Dave MH, Bacic D, Ristic Z, Camargo SM, Loffing J, Wagner CA, Verrey F. 2006. Luminal kidney and intestine SLC6 amino acid transporters of B0AT-cluster and their tissue distribution in Mus musculus. Am J Physiol Renal Physiol 290: F376-F383.

Rosadio R, Maturrano H L, Pérez J D, Luna E L. 2012. El complejo entérico neonatal en alpacas andinas. Rev Inv Vet Perú 23(3): 261-271.

Rosadio R, Londoñe P, Pérez D, Castillo H, Véliz A, Llanco L, Yaya K, Maturrano L. 2010. Eimeria macusaniensis associated lesions in neonate alpacas dying from enterotoxemia. Vet Parasitol 168(1-2): 116–120.

Rosell S, Rökaeus A. 1979. The effect of ingestion of amino acids, glucose and fat on circulating neurotensin-like immunoreactivity (NTLI) in man. Acta Physiol Scand 107: 263-267.

Ross M. 2015. Capítulo 17: Sistema Digestivo II: Esófago y tubo digestivo. En Ross y Pawlina, Histología Texto y Atlas, Correlación con Biología Molecular y Celular. 7ma Edición. Editorial Wolters Kluwer, USA. p: 617-650.

Ross MH, Romrell LJ, Kaye GI. 1992. Histologia texto y atlas color. 2a Ed. Editorial Médica Panamericana. España.

Ross MH, Romrell LJ, Kaye GI. 2005. Capítulo 16: Aparato Digestivo II: esófago, estómago e intestino. En: Histología. Texto y atlas color. Editorial Médica Panamericana. 4°ed. México, p 493-533.

Roth KA, Kim S, Gordon JI. 1992. Immunocytochemical studies suggest two pathways for enteroendocrine cell differentiation in the colon. Am J Physiol 263(Pt1): G174-G180.

Roulis M, Flavell RA. 2016. Fibroblasts and myofibroblasts of the intestinal lamina propria in physiology and disease. Differentiation 92: 116–131.

Round JL, Mazmanian SK. 2009. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. Nat Rev Immunol 9: 313–323.

Rubin DC. 1992. Spatial analysis of transcriptional activation in fetal rat jejunal and ileal gut epithelium. Am J Physiol 263 (6 Pt1): G853-G863.

Rübsamen K, Engelhardt WV. 1978. Bicarbonate secretion and solute absorption in forestomach of the llama. Am J Physiol 235(1): E1-E6.

Rumbo M, Schiffrin EJ. 2005. Ontogeny of intestinal epithelium immune functions: developmental and environmental regulation. Cell Mol Life Sci. 62: 1288-1296.

Rumio C, Besusso D, Palazzo M, Selleri S, Sfondrini L, Dubini F, Ménard S, Balsari A. 2004. Degranulation of Paneth cells via toll-like receptor 9. Am J Pathol 165: 373–381.

Sailaja BS, He XC, Li L. 2016. The regulatory niche of intestinal stem cells. J Physiol 594: 4827–4836.

Sakamoto S, Watanabe T, Tokumaru T, Takagi H, Nakazato H, Lloyd KO. 1989. Expression of Lewisa, Lewisb, Lewisx, Lewisy, siayl-Lewisa, and sialyl-Lewisx blood group antigens in human gastric carcinoma and in normal gastric tissue. Cancer Res 49(3): 745-752.

Sakata I. Sakai T. 2010. Ghrelin cells in the gastrointestinal tract. Int J Pept 2010: 945056.

Salva MN, Gupta C, Pandey AK, Kumar N, Kotian SR, Kalthur SG. 2019. Histogenesis and histomorphometric study of human fetal small intestine. Ethiop J Health Sci 29(6): 689-696.

Salvo-Romero E, Alonso-Cotoner C, Pardo-Camacho C, Casado-Bedmar M, Vicario M. 2015. The intestinal barrier function and its involvement in digestive disease. Rev Esp Enf Dig 107(11): 686-696.

San Martin F. 2015. Adaptación nutricional y metabólica de los Camélidos Sudamericanos. En: Memoria VII Congreso Mundial sobre Camélidos. Puno, Perú. p 407- 410.

San Martín F, Bryant FC. 1989. Nutrition of domesticated South American llamas and alpacas. Small Rum Res 2:191–216.

San Martín F, Van Saun R. 2014. Applied Digestive Anatomy and Feeding Behavior. En: Llama and Alpaca Care Medicine, Surgery, Reproduction, Nutrition, and Herd Health. Ed. Elsevier. p 51-58.

Sanders KM, Kito Y, Hwang JY, Ward SM. 2016. Regulation of gastrointestinal smooth muscle function by interstitial cells. Physiol 31: 316–326.

Sandoval DA, Bagnol D, Woods SC, D'Alessio DA, Seeley RJ. 2008. Arcuate glucagon-like peptide 1 receptors regulate glucose homeostasis but not food intake. Diabetes 57(8): 2046-2054.

Sangild P, Schmidt M, Jacobsen M, Fowden A, Forhead A, Avery B, Greve T. 2000. Blood chemistry, nutrient metabolism, and organ weights in fetal and newborn calves derived from in vitro-produced bovine embryos. Biol Reprod 62(6): 1495-1504.

Sangild PT, Sjöström H, Norén O, Fowden AL, Silver M. 1995. The prenatal development and glucocorticoid control of brush-border hydrolases in the pig small intestine. Pediatr Res 37(2): 207-212.

Santana ES, Andrade MA, Rocha TM, Stringhini JH, Café MB, Jayme VS, Barnabé ACS, Alcântara JB. 2012. Performance of broilers experimentally inoculated with Salmonella typhimurium and fed diets with addition of lactulosis. Rev Bra Zootec 41(8): 1884-1889.

Santaolalla R, Abreu MT. 2012. Innate immunity in the small intestine. Curr Opin Gastroenterol 28: 124–129.

Sarker S, Gyr K. 1992. Non-immunological defence mechanisms of the gut. Gut 33(7): 987-993.

Sato A, Guzmán J, Nuñez Q. 1968. Estudio preliminar sobre las medidas de algunos órganos de la alpaca (Lama pacos). Rev Fac Med Vet UNMSM 22: 61-69.

Sato A, Miyoshi S. 1988. Ultrastructure of the main excretory duct epithelia of the rat parotid and submandibular glands with a review of the literature. Anat Rec 220: 239-251.

Sato A, Montoya L. 1989. Anatomía macroscópica del aparato digestivo de la alpaca (Lama pacos). UNMSM Bol Téc 6: 20.

Sato T, Clevers H. 2013. Growing self-organizing mini-guts from a single intestinal stem cell: mechanism and applications. Sci 340(6137): 1190-1194.

Sato T, van Es JH, Snippert HJ, Stange DE, Vries RG, van den Born M, Barker N, Shroyer NF, van de Wetering M, Clevers H. 2011. Paneth cells constitute the niche for Lgr5 stem cells in intestinal crypts. Nature 469: 415-418.

Satoh Y, Habara Y, Ono K, Kanno T. 1995. Carbamylcholine- andcatecholamine-induced intracellular calcium dynamics of epithelial cells inmouse ileal crypts. Gastroenterol 108: 1345-1356.

Satoh Y, Ishikawa K, Oomori Y, Ono K. 1989. Effects of cholecystokinin and carbamylcholine on Paneth cell secretion in mice: a comparison. Anat Rec 255(2): 124-132.

Satoh Y, Ishikawa K, Oosmori T, Takeda S, Ono K. 1992. Bethanechol and aG-protein activator, Na F/AlCl3, induce secretory response in Paneth Cells ofthe mouse intestine. Cell Tiss Res 269: 213–220.

Satoh Y, Tanaka H, Ono K. 1986. Immunohistochemical observations of immunoglobulin A in the Paneth cells of germ-free and formerly-germ-gree rats. Histochem 86: 197-201.

Satoh Y, Yamano M, Matsuda M, Ono K. 1990. Ultrastructure of Paneth cells in the intestine of various mammals. J Electron Microsc Tech 16: 69-80.

Sauter S, Roffler B, Philipona C, Morel C, Romé B, Guilloteau P, Blum J, Hammon H. 2004. Intestinal development in neonatal calves: Effects of glucocorticoids and dependence on colostrum feeding. Biol Neonate 85(2): 94-104.

Sawada M, Takahashi K, Sawada S, Midorikawa O. 1991. Selective killing of Paneth cells by intravenous administration of dithizone in rats. Int J Exp Pathol 72: 407-421.

Sbarbati R. 1982. Morphogenesis of the intestinal villi of the mouse embryo: chance and spatial necessity. J Anat 135(3): 477–499.

Schmidt GH, Wilkinson MM, Ponder BA. 1985. Cell migration pathway in the intestinal epithelium: an in situ marker system using mouse aggregation chimeras. Cell 40(2): 425-429.

Schmidt GH, Winton DJ, Ponder BA. 1988. Development of the pattern of cell renewal in the crypt-villus unit of chimaeric mouse small intestine. Develop 103(4): 785-790.

Schmidt M, Sangild P, Blum J, Andersen J, Greve T. 2004. Glucocorticoid and ACTH administration improves survival and organ maturation in premature calves. Theriogenology 61(89): 1729–1744.

Schmidt-Nielsen K. 1987. Temperature effects and temperature regulation. En: Animal Physiology: Adaptation and Environment, 3ra Edc, New York, Editorial Cambridge University Press, p 225-305.

Schonhoff SE, Giel-Moloney M, Leiter AB. 2004. Minireview: Development and differentiation of gut endocrine cells. Endocrinol 145(6): 2639-2644.

Schroeder BO. 2019. Fight them or feed them: how the intestinal mucus layer manages the gut microbiota. Gastroenterol Rep 7: 3–12.

Schuijers J, Junker JP, Mokry M, Hatzis P, Koo BK, Sasselli V, van der Flier LG, Cuppen E, van Oudenaarden A, Clevers H. 2015. Ascl2 acts as an R-spondin/Wnt-responsive switch to control stemness in intestinal crypts. Cell Stem Cell 16: 158–170.

Schuijt TJ, van der Poll T, de Vos WM, Wiersinga WJ. 2013. The intestinal microbiota and host immune interactions in the critically ill. Trends Microbiol 21: 221–229.

Scillitani G, Mentino D, Liquori GE, Ferri D. 2012. Histochemical characterization of the mucins of the alimentary tract of the grass snake, Natrix natrix (Colubridae). Tissue Cell 44(5): 288-295.

Schauer DB. 1997. Indigenous microflora: paving the way for pathogens?. Current Biology 7(2): R75-R77.

Scott GBD. 1979. The comparative pathology of the primate colon. J Pathol 127: 65-72.

Scoville DH, Sato T, He XC, Li L. 2008. Current view: intestinal stem cells and signaling. Gastroenterol 134: 849–864.

Sderholm JD, Perdue MH. 2006. Chapter 18: Effect of stress on intestinal mucosal function. En: Johnson L Edit: Physiology of the gastrointestinal tract, 4th ed Amsterdam: Editorial Elsevier Academic Press, pp 763-790.

Segovia SM, Enz N, Alsina Ál, Valdovinos BM. 2016. Uso y aplicaciones de la inmunohistoquímica con el anticuerpo anti-ghrelina para el estudio de la pulpa dentaria. Rev Fac Med UNNE 36(3): 81-88.

Sender R, Fuchs S, Milo R. 2016. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. Plos Biol 14(8): e1002533.

Sepúlveda J. 2012. Texto Atlas de Histología Biología Celular y Tisular. México: McGraw Hill. 388p.

Shahrestani J, M Das J. 2020. Neuroanatomy, Auerbach Plexus. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551559/

Shan M, Gentile M, Yeiser JR, Walland AC, Bornstein VU, Chen K, He B, Cassis L, Bigas A, Cols M, Comerma L, Huang B, Blander JM, Xiong H, Mayer L, Berin C, Augenlicht LH, Velcich A, Cerutti A. 2013. Mucus enhances gut homeostasis and oral tolerance by delivering immunoregulatory signals. Science 342:447-453.

Sharma R, Schunacher U, Ronnasen V, Coates M. 1995. Rat intestinal mucosal responses to a microbial flora and different diets. Gut 36: 209-214.

Sheahan DG, Jervis HR. 1976. Comparative histochemistry of gastrointestinal mucosubstances. Am J Anat 146(2): 103-131.

Sheng YH, Triyana S, Wang R, Das I, Gerloff K, Florin TH, Sutton P, McGuckin MA. 2013. MUC1 and MUC13 differentially regulate epithelial inflammation in response to inflammatory and infectious stimuli. Mucosal Immunol 6 (3): 557–68.

Sherman MP. 2010. New concepts of microbial translocation in the neonatal intestine: mechanisms and prevention. Clin Perinatol 37(3): 565-579.

Sherwood RI, Maehr R, Mazzoni EO, Melton DO. 2011. Wnt signaling specifies and patterns intestinal endoderm. Mech Dev 128: 387-400.

Shi J, Barakat M, Chen D, Chen L. 2018. Bicellular tight junctions and wound healing. Int J Mol Sci 19(12):3862.

Shimada T, Hoshi T. 1987. Role of Na+/H+ antiport in intracellular pH regulation by rabbit enterocytes. Biochim Biophys Acta 901: 265-272.

Shirazi-Beechey SP, Smith MW, Wang Y, James PS. 1991. Postnatal development of lamb intestinal digestive enzymes is not regulated by diet. J Physiol 437: 691-698.

Shroyer NF, Wallis D, Venken KJ, Bellen HJ, Zoghbi HY. 2005. Gfi1 functions downstream of Math1 to control intestinal secretory cell subtype allocation and differentiation. Genes Dev 19: 2412–2417.

Shu R, David ES, Ferraris RP. 1997. Dietary fructose enhances intestinal fructose transport and GLUT5 expression in weaning rats. Am J Physiol 272(3 Pt1): G446-G453.

Shyer T. Tallinen, N. Nerurkar, Z. Wei, E. Gil, D. Kaplan, Tabin CJ, Mahadevan L. 2013. Villification: how the gut gets its villi. Science 342(6155): 212–218.

Siguas O, Paucar R, Olazabal J, San Martin F, Vélez V. 2007. Valores bioquímicos sanguíneos en alpacas en dos epocas del Año en condiciones de huancavelica: aportes al perfil Metabolico de la especie. Libro de resúmenes APPA - ALPA - Cusco, Perú.

Silva D G. 1966. The fine structure of multivesicular cells with large microvilli in the epithelium of the mouse colon. J Ultrastruct Res 16: 693–705.

Singh I. 1971. The distribution of Paneth cells in the human small intestine. Anat Anz Bd 128: 60-65.

Sjölund K, Sandén G, Håkanson R, Sundler F. 1983. Endocrine cells in human intestine: an immunocytochemical study. Gastroenterol 85(5): 1120-1130.

Sklan D. 2000. Development of the Digestive Tract of Poultry. XXI World Poultry Congress, Montreal, Canada, p 21-24.

Skrzypek T, Szymańczyk S, Ferenc K, Kazimierczak W, Szczepaniak K, Zabielski R. 2018. The contribution of vacuolated foetal-type enterocytes in the process of maturation of the small intestine in piglets. Invited review. J Anim Feed Sci 27(3): 187–201.

Skrzypek T, Valverde Piedra JL, Skrzypek H, Kazimierczak W, Biernat M, Zabielski R. 2007. Gradual disappearance of vacuolated enterocytes in the small intestine of neonatal piglets. J Physiol Pharmacol 58(3): 87-95.

Skutelsky E, Moore RP, Alroy J. 1989. Lectin histochemistry of mammalian Brunner's glands. Histochemistry 90(5): 383-390.

Slomiany BL, Murty VL, Piotrowski J, Liau YH, Sundaram P, Slomiany A. 1992. Glycosulfatase activity of Helicobacter pylori toward gastric mucin. Biochem Biophys Res Commun 183: 506–513.

Smith GP, Jerome C, Norgren R. 1985. Afferent axons in abdominal vagus mediate satiety effect of cholecystokinin in rats. Am J Physiol 249: R638–R641.

Smith TK, Reed JB, Sanders KM. 1987. Origin and propagation of electrical slow waves in circular muscle of canine proximal colon. Am J Physiol Cell Physiol 252: C215–C224.

Smoot DT, Mobley HL, Chippendale GR, Lewison JF, Resau JH. 1990. Helicobacter pylori urease activity is toxic to human gastric epithelial cells. Infect Immun 58(6): 1992-1994.

Solcia E, Capella C, Fiocca R, Sessa F, La Rosa S, Rindi G. 1998. Disorders of the Endocrine System. En: Ming SC, Goldman H editors, Pathology of the Gastrointestinal Tract. , Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.

Sohn YS, Chae C. 2000. Lectin-binding capacity of glycoconjugates in Escherichia coli 09:K103:NM, 987P+ST+-infected porcine lower small intestines. J Vet Med Sci 62(5): 543-547.

Spanier B. 2014. Transcriptional and functional regulation of the intestinal peptide transporter PEPT1. J Physiol 592: 871-879.

Spence JR, Lauf R, Shroyer NF. 2011. Vertebrate intestinal endoderm development. Dev Dyn 240: 501–520.

Sponheimer M, Robinson T, Roeder B, Hammer J, Ayliffe L, Passey B, Cerling T, Dearing D, Ehleringer J. 2003. Digestion and passage rates of grass hays by llamas, alpacas, goats, rabbits, and horses. Small Ruminant Res 48: 149-154.

Srinivasan T, Than EB, Bu P, Tung KL, Chen KY, Augenlicht L, Lipkin SM, Shen X. 2016. Notch signalling regulates asymmetric division and inter-conversion between lgr5 and bmi1 expressing intestinal stem cells. Sci Rep 6: 26069.

Stahl M, Friis LM, Nothaft H, Liu X, Li J, Szymanski CM, Stintzi A. 2011. L-fucose utilization provides Campylobacter jejuni with a competitive advantage. Proc Natl Acad Sci USA 108(17): 7194-7199.

Stanford AH, Gong H, Noonan M, Lewis AN, Gong Q, Lanik WE, Hsieh JJ, Lueschow SR, Frey MR, Good M, McElroy SJ. 2020. A direct comparison of mouse and human intestinal development using epithelial gene expression patterns. Pediatr Res 88 (1): 66-76.

Stappenbeck TS, Wong MH, Saam JR, Mysorekar IU, Gordon JI. 1998. Notes from some crypt watchers: Regulation of renewal in the mouse intestinal epithelium. Curr Opin Cell Biol 10: 702–709.

Stefka AT, Feehley T, Tripathi P, Qiu J, McCoy K, Mazmanian SK, Tjota MY, Seo GY, Cao S, Theriault BR, Antonopoulos DA, Zhou L, Chang EB, Fu YX, Nagler CR. 2014. Commensal bacteria protect against food allergen sensitization. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 111: 13145–13150.

Steinhoff-Wagner J, Schönhusen U, Zitnan R, Hudakova M, Pfannkuche H, Hammon HM. 2015. Ontogenic changes of villus growth, lactase activity, and intestinal glucose transporters in preterm and term born calves with or without prolonged colostrum feeding. PLoS One 10(5): e0128154.

Sternini C, Anselm L, Rozengurt E. 2008. Enteroendocrine cells: a site of 'taste' in gastrointestinal chemosensing. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes 15: 73–78.

Stevens CE, Hume ID. 1995. Comparative physiology of the vertebrate digestive system, 2da edic. Cambridge University Press, Cambridge. 400p.

Stinson ALW, Lois Calhoun M. 1996. Capítulo 10: Sistema digestivo. En: Histología Veterianaria, 2° edición, Delmann HD (ed), Editorial Acribia, p: 177-221.

Stoddart RW, Jones CJP. 1998. Lectin Histochemistry and Cytochemistry-Light Microscopy. En Rhodes JM, Milton JD Edit. Lectin Methods and Protocols. p 21-39.

Stratman AN, Davis MJ, Davis GE. 2011. VEGF and FGF prime vascular tube morphogenesis and sprouting directed by hematopoietic stem cell cytokines. Blood 117(14): 3709–3719.

Struijs MC, Diamond IR, de Silva N, Wales PW. 2009. Establishing norms for intestinal length in children. J Pediatr Surg 44 (5): 933-938.

Stryer L. 1995. Bioquímica. Cuarta edición. Ed. Reverté S. A. España. p 476-479.

Sulaiman S, Marciani L. 2019. MRI of the Colon in the Pharmaceutical Field: The Future before us. Pharmaceutics 11(4): 146.

Sumar JB. 1999. Reproduction in Female souty American Domestic Camelids. J Reprod Fertil Suppl 54: 169-178.

Sumar JB. 2010. Nutrition in camelids. World Buiatrics Congress, Santiago: World Buiatrics Association, p: 343–357.

Sun WW, Krystofiak ES, Leo-Macias A, Cui R, Sesso A, Weigert R, Ebrahim S, Kachar B. 2020. Nanoarchitecture and dynamics of the mouse enteric glycocalyx examined by freeze-etching electron tomography and intravital microscopy. Comm Biol 3(1): 5.

Sundler F, Bottchere G, Ekblad E, Hakanson E. 1989. The Neuroendocrine System of the Gut. Acta Oncol 28: 303-314.

Sundström G, Helander HF. 1980. Quantitative Electron Microscopic Studies on Rat Ileal Paneth Cells Under Various Physiological and Experimental Conditions. Hepatogastroenterol 27(4): 286-293.

Suwandi A, Galeev A, Riedel R, Sharma S, Seeger K, Sterzenbach T, García Pastor L, Boyle EC, Gal-Mor O, Hensel M, Casadesús J, Baines JF, Grassl GA. 2019. Std fimbriae-fucose interaction increases Salmonella-induced intestinal inflammation and prolongs colonization. PLoS Pathog 15(7): e1007915.

Suzuki K, Fukui H, Kayahara T, Sawada M, Seno H, Hiai H, Kageyama R, Okano H, Chiba T. 2005. Hes1-deficient mice show precocious differentiation of Paneth cells in the small intestine. Biochem Biophys Res Commun 328: 348–352.

Suzuki H, Yanaka A, Muto H. 2000. Luminal ammonia retards restitution of guinea pig injured gastric mucosa in vitro. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 279(1): G107-G117.

Suzuki H, Yanaka A, Shibahara T, Matsui H, Nakahara A, Tanaka N, Muto H, Momoi T, Uchiyama Y. 2002. Ammonia-induced apoptosis is accelerated at higher pH in gastric surface mucous cells. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 283(4): G986-G995

Svendsen B, Pedersen J, Albrechtsen NJ, Hartmann B, Torang S, Rehfeld JF, Poulsen SS, Holst JJ. 2015. An analysis of cosecretion and coexpression of gut hormones from male rat proximal and distal small intestine. Endocrinol 156: 847–857.

Sykaras AG, Demenis C, Case RM, McLaughlin JT, Smith CP. 2012. Duodenal enteroendocrine I-cells contain mRNA transcripts encoding key endocannabinoid and fatty acid receptors. PLoS One 7(8): e42373.

Sykaras AG, Demenis C, Cheng L, Pisitkun T, Mclaughlin JT, Fenton RA, Smith CP. 2014. Duodenal CCK cells from male mice express multiple hormones including ghrelin. Endocrinology 155: 3339–3351.

Tachibana K, Hirota S, Iizasa H, Yoshida H, Kawabata K, Kataoka Y, Kitamura Y, Matsushima K, Yoshida N, Nishikawa S, Kishimoto T, Nagasawa T. 1998. The chemokine receptor CXCR4 is essential for vascularization of the gastrointestinal tract. Nature 393: 391–394.

Tailford LE, Owen CD, Walshaw J, Crost EH, Hardy-Goddard J, Le Gall G, de Vos WM, Taylor GL, Juge N. 2015. Discovery of intramolecular trans-sialidases in human gut microbiota suggests novel mechanisms of mucosal adaptation. Nat Commun 6: 7624.

Takahashi T. 2019. Organoids for drug discovery and personalized medicine. Annu Rev Pharmacol Toxicol 59: 447–562.

Takahashi T, Shiraishi A. 2020. Stem Cell Signaling pathway in the small intestine. Int J Mol Sci 21(6): 2032.

Takanaga H, Mackenzie B, Suzuki Y, Hediger MA. 2005. Identification of mammalian proline transporter SIT1 (SLC6A20) with characteristics of classical system Imino, J Biol Chem 280: 8974-8984.

Takeda N, Jain R, LeBoeuf MR, Wang Q, Lu MM, Epstein JA. 2011. Interconversion between intestinal stem cell populations in distinct niches. Science 334: 1420–1424.

Takehana K, Abe M. 1987. Histochemistry of complex carbohydrates in the horse duodenal gland. J ColI Dairying 12: 269-277.

Takehana K, Masty J, Abe M, Yamaguchi M. 1991. Duodenal glands of the pony (Equus caballus). Anat Histol Embryol 20: 1-9.

Takehana K, Masty J, Yamaguchi M, Kobayashi A, Yamada O, Kuroda M, Park YS, Iwasa K, Abe M. 1998. Fine structural andhistochemical study of equine Paneth cells. Anat Histol Embryol 27: 125-129.

Takeuchi O, Akira S. 2010. Pattern recognition receptors and inflammation. Cell 140: 805–820.

Takeuchi K, Ohuchi T, Harada H, Okabe S. 1995. Irritant and protective action of urea-urease ammonia in rat gastric mucosa. Different effects of ammonia and ammonium ion. Dig Dis Sci 40(2): 274-281.

Takeuchi T, Fujibuchi T, Imai Y, Kamei Y, Murase R, Kito K, Abe Y, Ueda N. 2007. Differences in lectin-binding properties between the common mucosal epithelium and follicle-associated epithelium in the rabbit small intestine. J Vet Med Sci 69(6): 645-647.

Takuwa N, Shimada T, Matsumoto H, Himukai M, Hoshi T. 1985. Effect of hydrogen ion-gradient on carriermediated transport of glycylglycine across brush border membrane vesicles from rabbit small intestine. Jpn J Physiol 35: 629-642.

Tang Y, Swietlicki AE, Jiang S, Buhman KK, Davidson NO, Burkly LC, Levin MS, Rubin DC. 2006. Increased apoptosis and accelerated epithelial migration following inhibition of Hedgehog signaling in adaptative small bowel postresection. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 290 (6): G1280-G1288.

Tano de la Hoz MF, Eyheramendy V, Felipe AE, Díaz AO. 2016. Comparative analysis of the morphology and histochemistry of the duodenum of the coypu (Myocastor coypus bonariensis) during its prenatal and postnatal development. Tissue Cell 48(1): 18-24.

Tano de la Hoz MF, Flamini MA, Portiansky EL, Díaz AO. 2019. Analysis of glycoconjugates and morphological characterization of the descending colon and rectum of the plains viscacha, Lagostomus maximus. Zoology (Jena) 135: 125691.

Taylor C, Shi S, Cote R. 1996. Review: Antigen retrieval for immunohistochemistry. Appl Immunohistochem 4: 144-166.

Terahara K, Nochi T, Yoshida M, Takahashi Y, Goto Y, Hatai H, Kurokawa S, Jang MH, Kweon MN, Domino SE, Hiroi T, Yuki Y, Tsunetsugu-Yokota Y, Kobayashi K, Kiyono H. 2011. Distinct fucosylation of M cells and epithelial cells by Fut1 and Fut2, respectively, in response to intestinal environmental stress. Biochem Biophys Res Commun 404(3): 822-828.

Thwaites DT, Anderson CM. 2007. H+-coupled nutrient, micronutrient and drug transporters in the mammalian small intestine. Exp Physiol 92: 603-619.

Tian X, Liu Z, Niu B, Zhang J, Tan TK, Lee SR, Zhao Y, Harris DC, Zheng G. 2011. E-cadherin/β-catenin complex and the epithelial barrier. J Biomed Biotechnol 2011: 567305.

Tivey DR, Smith MW. 1989. Cytochemical analysis of single villus peptidase activities inpig intestine during neonatal development. Histochem J 21(9-10): 601-608.

Toofanian F. 1976a. Histological development of the small intestinal mucosa in the ovine fetus. Res Vet Sci 21(3): 349-353.

Toofanian F. 1976b. Histological observations on the developing intestine of the bovine fetus. Res Vet Sci 21: 36-40.

Toofanian F. 1984. The fetal and postnatal development of small intestinal disaccharidases in the rabbit. Lab Anim Sci 34: 268-271.

Toofanian F, Targowski SP. 1982. Morphogenesis of rabbit small intestinal mucosa. Am J Vet Res 43(12): 2213-2219.

Torow N, Marsland BJ, Hornef MW, Gollwitzer ES. 2017. Neonatal mucosal immunology. Mucosal Immunol 10(1): 5-17.

Tortora GJ, Grabowski SR. 2003. The digestive system. In: Principles of anatomy and physiology. Hoboken, NJ: John Wiley. p 331-340.

Toth D. 1980. Ultrastructural changes in Paneth cells during hibernation in the ground squirrel Spermophilus lateralis. Cell Tissue Res 211: 293-301.

Totzauer I. 1991. Development of the bovine duodenum with reference to enterochromaffin cells. Anat Hist Emb 20(1): 54-65.

Trahair J, Robinson P. 1986. The development of the ovine small intestine. Anat Record 214(3): 294-303.

Trahair J, Rodgers HF, Cool JC, Ford DA. 1993. Altered intestinal development after jejunal ligation in fetal sheep. Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol 423(1): 45-50.

Trahair JF, Harding R, Bocking AD, Silver M, Robinson PM. 1986. The role of ingestion in the development of the small intestine in fetal sheep. Q J Exp Physiol 71(1): 99-104.

Trasorras V L, Miragaya M H. 2012. Vicuña: Técnicas de Biotecnología reproductiva desarrolladas para la eventual aplicación en la conservación de la especie. In: Proceedings of the VI Congreso Mundial de Camélidos Sudamericanos. I: 37–42.

Trier J S, Lorenzsonn V, Groehler K. 1967. Pattern of secretion of Paneth cells of the small intestine of mice. Gastroenterol 53: 240-249.

Trier JS, Moxey PC. 1979. Morphogenesis of the small intestine during fetal development. Ciba Found Symp 70: 3-29.

Tsubouchi S, Leblond CP. 1979. Migration and turnover of enteroendocrine and caveolated cells in the epithelium of the descending colon, as shown by radioautography after continuous infusion of 3H-thymidine into mice. Am J Anat 156: 431–451.

Tsuchiya K, Nakamura T, Okamoto R, Kanai T, Watanabe M. 2007. Reciprocal targeting of Hath1 and beta-catenin by Wnt glycogen synthase kinase 3beta in human colon cancer. Gastroenterol 132:208–220.

Tsujii M, Kawano S, Tsuji S, Fusamoto H, Kamada T, Sato N. 1992. Mechanism of gastric mucosal damage induced by ammonia. Gastroenterol 102(6): 1881-1888.

Tsukiyama K, Yamada Y, Yamada C, Harada N, Kawasaki Y, Ogura M, Bessho K, Li M, Amizuka N, Sato M, Udagawa N, Takahashi N, Tanaka K, Oiso Y, Seino Y. 2006. Gastric inhibitory polypeptide as an endogenous factor promoting new bone formation after food ingestion. Mol Endocrinol 20: 1644-1651.

Tulstrup MV-L, Christensen EG, Carvalho V, Linninge C, Ahrné S, Højberg O, Licht TR, Bahl MI. 2015. Antibiotic Treatment Affects Intestinal Permeability and Gut Microbial Composition in Wistar Rats Dependent on Antibiotic Class. PLoS ONE 10: e0144854.

Turner JR. 2009. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. Nat Rev Immunol 9(11): 799–809.

Turner JR, Rill BK, Carlson SL, Carnes D, Kerner R, Mrsny RJ, Madara JL. 1997. Physiological regulation of epithelial tight junctions is associated with myosin light-chain phosphorylation. Am J Physiol 273(4): C1378-C1385.

Turton MD, O'Shea D, Gunn I, Beak SA, Edwards CM, Meeran K, Choi SJ, Taylor GM, Heath MM, Lambert PD, Wilding JP, Smith DM, Ghatei MA, Herbert J, Bloom SR. 1996. A Role for Glucagon-Like peptide-1 in the Central Regulation of Feeding. Nature 379(6560):69-72.

Tytgat HL, Lebeer S. 2014. The sweet tooth of bacteria: common themes in bacterial glycoconjugates. MMBR 78: 372– 417.

Tytgat HL, van Teijlingen NH, Sullan RM, Douillard FP, Rasinkangas P, Messing M, Reunanen J, Satokari R, Vanderleyden J, Dufrêne YF, Geijtenbeek TB, de Vos WM, Lebeer S. 2016. Probiotic Gut Microbiota Isolate Interacts with Dendritic Cells via Glycosylated Heterotrimeric Pili. PLoS One 11(3): e0151824.

Ueda J, Cebra C, Tornquist S. 2004. Assessment of the effects of exogenous long-acting insulin on glucose tolerance in alpacas. Am J Vet Res 65(12): 1688-1691.

Ugolev A, De Laey P. 1973. Membrane digestion. A concept of enzyme hydrolysis on cell membranes. Biochim Biophys Acta 300: 105-128.

Ulluwishewa D, Anderson RC, McNabb WC, Moughan PJ, Wells JM, Roy NC. 2011. Regulation of Tight Junction Permeability by Intestinal Bacteria and Dietary Components. J Nut 141(5): 769-776.

Uni Z, Ganot S, Sklan D. 1998. Post hatch development of mucosal function in the broiler small intestine. Poult Sci 77: 75-82.

Unno N, Fink MP. 1998. Intestinal Epithelial Hyperpermeability. Mechanisms and relevance to disease. Gastroenterol Clin North Am 27: 289-307.

Unno N, Menconi MJ, Smith M, Aguirre DE, Fink MP. 1997. Hyperpermeability of intestinal epithelial monolayers is induced by NO: effect of low extracellular pH. Am J Physiol 272: G923-G934.

Upchurch BH, Fung BP, Rindi G, Ronco A, Leiter AB. 1996. Peptide YY expression is an early event in colonic endocrine cell differentiation: evidence from normal and transgenic mice. Development 122(4): 1157-1163.

Vaandrager AB. 2002. Structure and function of the heat-stable enterotoxin receptor/guanylyl cyclase C. Mol Cell Biochem 230: 73-83.

Vahl TP, Drazen DL, Seeley RJ, D'Alessio DA, Woods SC. 2010. Meal-anticipatory glucagon-like peptide-1 secretion in rats. Endocrinol 151(2): 569-575.

Vaishnava S, Yamamoto M, Severson KM, Ruhn KA, Yu X, Koren O, Ley R, Wakeland EK, Hooper LV. 2011. The antibacterial lectin RegIIIgamma promotes the spatial segregation of microbiota and host in the intestine. Science 334(6053): 255-258.

Vance RE, Isberg RR, Portnoy DA. 2009. Patterns of pathogenesis: discrimination of pathogenic and nonpathogenic microbes by the innate immune system. Cell Host Microbe 6: 10–21.

Vallenas A. 1956. Glucemia en la alpaca. Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria VII a XI: 142-155.

Vallenas A. 1965. Some physiological aspects of digestión in the alpaca (Lama pacos). In: Physiology of digestion in the ruminant, 2nd Inter Symp on Physiol Ruminan, Ed Dougherty, Butterworths, Washington DC, p 147-158.

Vallenas A. 1991. Características Anátomofisiológicas. En Avances y Perspectivas del Conocimiento de los Camélidos Sudamericanos. Edit. Saúl Fernández Baca, Santiago, Chile, 56p.

Vallenas A, Stevens C.E. 1971a. Motility of the llama and guanaco stomach. Am J Physiol 220: 275-282.

Vallenas A, Stevens C.E. 1971b. Volatile fatty acid concentrations and pH of llama and guanco forestomach digesta. Cornell Vet 61: 239-252.

Vallenas A., Llerena L., Valenzuela A., Chauca D., Esquerre J., Candela E. 1973. Concentración de ácidos grasos volátiles a lo largo del tracto gastrointestinal de alpacas y llamas. Rev Inv Pec (IVITA), UNMSM 2 (1): 3-14.

van der Flier LG, Clevers H. 2009. Stem cells, self-renewal, and differentiation in the intestinal epithelium. Annu Rev Physiol. 71:241–260.

van der Flier LG, van Gijn ME, Hatzis P, Kujala P, Haegebarth A, Stange DE, Begthel H, van den Born M, Guryev V, Oving I, van Es JH, Barker N, Peters PJ, van de Wetering M,

Clevers H. 2009. Transcription factor achaete scute-like 2 controls intestinal stem cell fate. Cell 136: 903-912.

van der Wath RC, Gardiner BS, Burgess AW, Smith DW. 2013. Cell Organisation in the Colonic Crypt: A Theoretical Comparison of the Pedigree and Niche Concepts. PLoS One 8(9): e73204.

van Es JH, van Gijin ME, Riccio O, van den Born M, Vooijis M, Begthel H, Cozijnsen M, Robine S, Winton DJ, Radtke F, Clevers H. 2005. Notch/gamma-secretase inhibition turns proliferative cells in intestinal crypts and adenomas in to goblet cells. Nature 435(7044): 959-963.

Van Hoogmoed L, Roberts G, Snyder JR, Yarbrough T, Harmon F. 1998. Use of computed tomography to evaluate the intestinal tract of adult llamas. Vet Radiol Ultrasound Off J Am Coll Vet Radiol Int Vet Radiol Assoc 39: 117–122.

Van Loy T, Vandersmissen HP, Poels J, Van Hiel MB, Verlinden H, Vanden Broeck J. 2010. Tachykinin-related peptides and their receptors in invertebrates: a current view. Peptides 31(3): 520-524

Van Saun RJ. 2006. Nutrient requirements of South American camelids: A factorial approach. Small Rum Res 61: 165-186.

Varndell IM, Lloyd RV, Wilson BS, Polak JM. 1985. Ultrastructural localization of chromogranin: a potential marker for the electron microscopical recognition of endocrine cell secretory granules. Histochem J 17(9): 981–992.

Vásquez ME, Gomez EP, Rodríguez JL, Lira B, Pérez NF, Zanuzzi CN, Barbeito C. 2014. Paneth cell identification in the small intestine of guinea pig offsprings (Cavia porcellus). Anat Rec 297(5): 856-863.

Vater A, Maierl O. 2018. Adaptive Anatomical Specialization of the Intestines of Alpacas Taking into Account their Original Habitat and Feeding Behaviour. Anat Rec 301: 1840–1851.

Vaughan J. 2012. Practical Aspects of Embryo Transfer and Artificial Insemination in South American Camelids. In: Proceedings VI Congreso Mundial de Camélidos Sudamericanos, I: 71–84.

Verdiglione R, Mammola CL, Filotto U. 2002. Glycoconjugate histochemistry of bovine Brunner glands. Ann Anat 184(1): 61-69.

Verdiglione R, Montesi F. 2019. Ultrastructural investigation on bovine Brunner´s glands. Trans Res Anat 15(100039): 1-4.

Verhelst X, Dias AM, Colombel JF, Vermeire S, Van Vlierberghe H, Callewaert N, Pinho SS. 2020. Protein glycosylation as a diagnostic and prognostic marker of chronic inflammatory gastrointestinal and liver diseases. Gastroenterol 158(1): 95-110.

Verrey F, Closs EI, Wagner CA, Palacin M, Endou H, Kanai Y. 2004. CATs and HATs: the SLC7 family of amino acid transporters. Pflügers Archives 447(5): 532- 542.

Vidrich A, Buzan JM, De La Rue SA, Cohn SM. 2006. Chapter 11. Physiology of gastrointestinal stem cells. En: Johnson L Ed: Physiology of the gastrointestinal tract, 4th ed, Amsterdam: Editorial Elsevier Academic Press, p 307-343.

Vieites J. 2002. Análisis de la expresión de genes en la diferenciación de enterocitos y en la enfermedad inflamatoria intestinal. Tesis de Doctorado, España: Universidad de Granada.

Vigueras RM, Rojas-Castañeda J, Hernández R, Reyes G, Álvarez C. 1999. Histological characteristics of the intestinal mucosa of the rat during the first year of life. Lab Anim 33(4): 393-400.

Vilsbøll T, Knop FK, Krarup T, Johansen A, Madsbad S, Larsen S, Hansen T, Pedersen O, Holst JJ. 2003. The pathophysiology of diabetes involves a defective amplification of the late-phase insulin response to glucose by glucose-dependent insulinotropic polypeptide—regardless of etiology and phenotype. J Clin Endocrinol Metab 88: 4897-4903.

Vimal DB, Khullar M, Gupta S, Ganguly NK. 2000. Intestinal mucins: the binding sites for Salmonella typhimurium. Mol Cell Biochem 204:107–117.

Visser J, Rozing J, Sapone A, Lammers K, Fasano A. 2009. Tight junctions, intestinal permeability, and autoimmunity: celiac disease and type 1 diabetes paradigms. Ann NY Acad Sci 1165: 195– 205.

von Moltke J, Ji M, Liang H E, Locksley RM. 2016. Tuft-cell-derived IL-25 regulates an intestinal ILC2-epithelial response circuit. Nature 529: 221–225.

Vrabcova M, Mikuska L, Vazan R, Miko M, Varga I, Mravec B. 2016. Effect of chronic intake of liquid nutrition on stomach and duodenum morphology. Acta Histochem 118(4): 435-42.

Walker M. 2009. Transient fluctuations of intracellular zinc ions in cell proliferation. Exp Cell Res 315: 2463-2470.

Walker RA. 1988. The use of lectins in histology and histopathology. A review. In: Bog-Hansen TC, Freed DLJ Edit. Lectins. Biology, biochemistry, clinical biochemistry, vol 6, Sigma Chemical Company, St Louis, Missouri, USA.

Walko G, Castañón MJ, Wiche G. 2015. Molecular architecture and function of the hemidesmosome. Cell Tissue Res 360(3):529-544.

Walsh JH. 1987. Gastrointestinal hormones. In: Physiology of the Gastrointestinal Tract, 2nd edic, edited by Johnson LR, New York: Raven Press, vol 1, p 181–253.

Walton KD, Freddo AM, Wang S, Gumucio DL. 2016. Generation of intestinal surface: an absorbing tale. Development 143(13): 2261-2272.

Walton KD, Kolterud A, Czerwinski MJ, Bell MJ, Prakash A, Kushwaha J, Grosse AS, Schnell S, Gumucio DL. 2012. Hedgehog-responsive mesenchymal clusters direct patterning and emergence of intestinal villi. Proc Natl Acad Sci USA 109(39): 15817-15822.

Walton KD, Kolterud A. 2014. Mouse fetal whole intestine culture system for ex vivo manipulation of signaling pathways and three-dimensional live imaging of villus development. J Vis Exp 91: e51817.

Wang H, Kavanaugh MP, North RA, Kabat D. 1991. Cell-surface receptor for ecotropic murine retroviruses is a basic amino-acid transporter. Nature 352: 729-731.

Wang ML, Keilbaugh SA, Cash-Mason T, He XC, Li L, Wu GD. 2008. Immune-mediated signaling in intestinal goblet cells via PI3- kinase- and AKT-dependent pathways. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 295(5): G1122–G1130.

Wang J, Lu R, Fu X, Dan Z, Zhang YG, Chang X, Liu Q, Xia Y, Liu X, Sun J. 2018. Novel Regulatory Roles of Wnt1 in Infection-Associated Colorectal Cancer. Neoplasia 20(5): 499-509.

Wang N, Lv B, Guan L, Qiao H, Sun B, Luo X, Jia R, Chen K, Yan J. 2020. Maternal low protein exposure alters glucose tolerance and intestinal nutrient-responsive receptors and transporters expression of rat offspring. Life Sci 243: 117216.

Wang SY, Chi MM, Li L, Moley KH, Wice BM. 2003. Studies with GIP/Ins cells indicate secretion by gut K cells is KATP channel independent. Am J Physiol Endocrinol Metab 284(5): E988-E1000.

Watanabe H, Margulis A, Harter L. 1983. The occurrence of lymphoid nodules in the colon of adults. J Clin Gastroenterol 5: 535-539.

Weaver LT, Austin S, Cole TJ. 1991. Small intestinal length: a factor essential for gut adaptation. Gut 32: 1321–1323.

Webb SD. 1974. Plesitocene Llamas of Florida, with a brief review of the Lamini. In Plesitocene mammals of Florida (ed. S.D. Webb). Gainsville: University Press of Florida, p 170-214.

Wehkamp J, Wang G, Kübler I, Nuding S, Gregorieff A, Schnabel A, Kays RJ, Fellermann K, Burk O, Schwab M, Clevers H, Bevins CL, Stange EF. 2007. The Paneth cell alpha-defensin deficiency of ileal Crohn's disease is linked to Wnt/Tcf-4. J Immunol 179(5): 3109–3118.

Wehkamp J, Stange EF. 2020. An Update Review on the Paneth Cell as Key to Ileal Crohn's Disease. Front Immunol 11: 646.

Weidenmann B, Frank WW, Kuhn C, Moll R, Gould VE. 1986. Synaptophysin: a novel marker protein for neuroendocrine cells and neoplasms. Proc Natl Acad Sci USA 83: 3500-3504.

Wenzl E, Sjaastad MD, Weintraub WH, Machen TE. 1989. Intracellular pH regulation in IEC-6 cells, a cryptlike intestinal cell line. Am J Physiol 257: G732-G740.

Wheeler J, Kadwell M, Fernández M, Stanley H F, Baldi R, Rosadio R, Bruford MW. 2001. Genetic analysis reveals the wild ancestors of the llama and the alpaca. Proc Biol Sci 268(1485): 2575-2584.

White MF, Kahn CR. 1994. The insulin signaling system. J Biol Chem 269: 1–4.

Whitehead C. 2013. Diseases in camelids 1. Common presentations. In Pract 35: 317-324.

Wiedenmann B, Franke WW, Kuhn C, Moll R, Gould VE. 1986. Synaptophysin: a marker protein for neuroendocrine cells and neoplasms. Proc Natl Acad Sci USA 83(10): 3500-3504.

Wierup N, Björkqvist M, Weström B, Pierzynowski S, Sundler F, Sjölund K. 2007. Ghrelin and motilin are cosecreted from a prominent endocrine cell population in the small intestine. J Clin Endocrinol Metab 92: 3573-3581.

Wiest R, Rath C. 2003. Bacterial translocation in the gut. Best Pract Res Clin Gastroenterol 17: 397-425.

Wiklund B, Liljeqvist L, Rökaeus A. 1984. Neurotensin increases net fluid secretion and transit rate in the small intestine of man. Regul Pept 8: 33–39.

Wille KJ. 1990. The cytomorphology of globet cells of the fetal intestine. Studies of the large intestine of cattle (Bos primigenius taurus). Z Mikrosk Anat Forsch 104(6): 801-825.

Wille KH, Winkler F. 1998. Prenatal development of the lamina epithelialis in the phase of vacuolizatio of villous epitelial cells. Investigations on the intestines of cattle (Bos primigenius taurus L., 1758). Anat Histol Embryol 27(6): 365-373.

Wille KH, Winkler F. 1999. Further contribution on the fine structure of fetal globet cells. Investigations on the small intestine of cattle. Anat Histol Embryol 28(1): 49-53.

Windle HJ, Fox A, Ni Eidhin D, Kelleher D. 2000. The thioredoxin system of Helicobacter pylori. J Biol Chem 275: 5081–5089.

Winkler F, Wille KH. 1998. Early fetal development of the small intestine mucose in cattle (Bos primigenius Taurus). Anat Histol Embryol 27(5):335-343.

Wlodarska M, Thaiss CA, Nowarski R, Henao-Mejia J, Zhang JP, Brown EM, Frankel G, Levy M, Katz MN, Philbrick WM, Elinav E, Finlay BB, Flavell RA. 2014. NLRP6 inflammasome orchestrates the colonic host-microbial interpace by regulating goblet cell mucus secretion. Cell 156 (5):1045-1059.

Wong WM, Poulsom R, Wright NA. 1999. Trefoil peptides. Gut 44(6): 890-895.

Wood JG, Hoang HD, Bussjaeger LJ, Solomon TE. 1988. Effect of neurotensin on pancreatic and gastric secretion and growth in rats. Pancreas 3: 332-339.

Woodtli W, Owyang C. 1995. Duodenal pH governs interdigestive motility in humans. Am J Physiol 268: G146-G152.

Woodward AD, Holcombe SJ, Steibel JP, Staniar WB, Colvin C, Trottier NL. 2010. Cationic and neutral amino acid transporter transcript abundances are differentially expressed in the equine intestinal tract. J Anim Sci 88: 1028.

Worthington J, Reimann F, Gribble F. 2018. Enteroendocrine cells-sensory sentinels of the intestinal environment and orchestrators of mucosal immunity. Mucosal Immunol 11: 3–20.

Wright N A, Morley AR, Appleton DR, Marks JM, Douglas AP, Watson J. 1973. Measurement of cell production rate in the human small bowel. Pathol. Microbiol (Basel) 39: 251-253.

Xiao Q, Boushey RP, Cino M, Drucker DJ, Brubaker PL. 2000. Circulating levels of glucagon-like peptide-2 in human subjects with inflammatory bowel disease. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 278: R1057–R1063.

Xu RJ, Mellor DJ, Tungthanathanich P, Birtles MJ, Reynolds GW, Simpson HV. 1992a. Growth and morphological changes in the small and the large intestine in piglets during the first three days after birth. J Dev Physiol. 18(4): 161-172.

Xu RJ, Tungthanathanich P, Birtles MJ, Mellor DJ, Reynolds GW, Simpson HV. 1992b. Growth and morphological changes in the stomach of the newbom pigs during the first three days after birth. J Dev Physiol 17 (1): 7-14.

Yakabi K, Kawashima J, Kato S. 2008. Ghrelin and gastric acid secretion. World J Gastroenterol 14: 6334-6338.

Yamada S, Kojima H, Fujimiya M, Nakamura T, Kashiwagi A, Kikkawa R. 2001. Differentiation of immature enterocytes into enteroendocrine cells by Pdx1 overexpression. American Journal of Physiology, Gastrointestinal Liver Physiology 281(1): 229–236.

Yamasato T, Nakayama S. 1988. Effects of neurotensin on the motility of the isolated gallbladder, bile duct and ampulla in guinea-pigs. Eur J Pharmacol 148: 101–106.

Yang Q, Bermingham NA, Finegold MJ, Zoghbi HY. 2001. Requirement of Math1 for secretory cell lineage commitment in the mouse intestine. Science 294(5549): 2155-2158.

Yang C, Albin DM, Wang Z, Stoll B, Lackeyram D, Swanson KC, Yin Y, Tappenden KA, Mine Y, Yada RY, Burrin DG, Fan MZ. 2011. Apical Na+-D-glucose cotransporter 1 (SGLT1) activity and protein abundance are expressed along the jejunal crypt-villus axis in the neonatal pig. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 300(1): G60-G70.

Yan KS, Chia LA, Li X, Ootani A, Su J, Lee JY, Su N, Luo Y, Heilshorn SC, Amieva MR, Sangiorgi E, Capecchi MR, Kuo CJ. 2012. The intestinal stem cell markers Bmi1 and Lgr5 identify two functionally distinct populations. Proc Natl Acad Sci U S A 109(2): 466-471.

Yin J, Ren W, Duan J, Wu L, Chen S, Li T, Yin Y, Wu G. 2014. Dietary arginine supplementation enhances intestinal expression of SLC7A7 and SLC7A1 and ameliorates growth depression in mycotoxin-challenged pigs. Amino Acids 46: 883-892.

Yokoi Y, Nakamura K, Yoneda T, Kikuchi M, Sugimoto R, Shimizu Y, Ayabe T. 2019. Paneth cell granule dynamics on secretory responses to bacterial stimuli in enteroids. Sci Rep 9(1): 2710.

Yokoo Y, Miyata H, Udayanga KGS, Qi WM, Takahara E, Mantani Y, Yokoyama T, Kawano J, Hoshi N, Kitagawa H. 2011. Immunohistochemical and histoplanimetrical study on the spatial relationship between the settlement of indigenous bacteria and the secretion of bactericidal peptides in rat alimentary tract. J Vet Med Sci 73: 1043-1050.

Yousefi M, Li L, Lengner CJ. 2017. Hierarchy and plasticity in the intestinal stem cell compartment. Trends Cell Biol 27:753–764.

Yu M, Cui X, Wang H, Liu J, Qin H, Liu S, Yan Q. 2019. FUT8 drives the proliferation and invasion of trophoblastic cells via IGF-1/IGF-1R signaling pathway. Placenta 75: 45-53.

Zabielski R, Gajewski Z, Valverde Pietra JL, Laubitz D, Wilczak J, Bałasińska B, Kulasek G. 2007. The perinatal development of the gastrointestinal tract in piglets can be modified by supplementation of sow diet with bioactive substances. Livest Sci 109: 34–37.

Zanuzzi C, Barbeito C. 2014. "Sistema Digestivo", en González, N. y Barbeito, C. (eds.) Histología de las Aves. 1a ed. La Plata, Argentina: Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP), p 155-203.

Zanuzzi C. 2010. Efectos de la intoxicación con Solanum glaucophyllum (duraznillo blanco) sobre la proliferación, diferenciación y muerte celular en el intestino de conejos. Tesis para optar al título de Doctor en Ciencias Veterinarias. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

Zanuzzi CN, Barbeito CG, Ortíz ML, Lozza FA, Fontana PA, Portiansky EL, Gimeno EJ. 2010. Glycoconjugate histochemistry in the small and large intestine of normal and Solanum glaucophyllum-intoxicated rabbits. Res Vet Sci 89(2): 214-222.

Zanuzzi CN, Fontana PA, Barbeito CG, Portiansky EL, Gimeno EJ. 2008. Paneth cells: histochemical and morphometric study in control and Solanum glaucophyllum intoxicated rabbits. Eur J Histochem 52(2): 93-100.

Zasloff M. 2002. Antimicrobial peptides of multicellular organisms. Nature 415(6870): 389–395.

Zheng Y, Scow JS, Duenes JA, Sarr MG. 2012. Mechanisms of glucose uptake in intestinal cell lines: Role of GLUT2. Surgery 151: 13–25.

Zhou J, Zhang W, Liu W, Sheng J, Li M, Chen X, Dong R. 2020b. Histological study of intestinal goblet cells, IgA, and CD3+ lymphocyte distribution in Huang-huai white goat. Folia Morphol (Warsz) 79 (2): 303-310.

Zhou JY, Lin H, Wang Z, Zhang S, Huan D, Gao C, Yan H, Wang Z. 2020a. Zinc L aspartato enhances intestinal stem cell activity to protect the integrity of the intestinal mucosa against deosxynivalenol through activation of the Wnt/β catenin signaling pathway. Environm Pollut 262: 114290.

Zhou JY, Wang Z, Zhang SW, Lin HL, Gao CQ, Zhao JC, Yang CB,Wang XQ. 2019a. Methionine and its hydroxyl analogs improve stem cell activity to eliminate deoxynivalenol-induced intestinal injury by reactivating Wnt/b-catenin signaling. J Agric Food Chem 67: 11464-11473.

Zhou JY, Zhang SW, Lin HL, Gao CQ, Yan HC, Wang XQ. 2019b. Hydrolyzed wheat gluten improves intestinal stem cell proliferation and differentiation exposed to deoxynivalenol by regulating the Wnt/b-catenin signaling in mice. Food Chem Toxicol 131: 110579-110589.

Zhu J, Luo HS, Chen L, Liang CB, Xia H. 2011. Effects of cholecystokinin octapeptide on the contractile activity of guinea-pig colonic smooth muscles, L-type calcium currents and membrane potentials of myocytes. Zhonghua Yi Xue Za Zhi 91(12): 840-844.

Zhu F, Wu H. 2015. Insights into bacterial protein glycosylation in human microbiota. Sci. China Life Sci 59: 11–18.