



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

**Desarrollo ontogénico de las placas de Peyer del íleon
en alpacas (*Vicugna pacos*)**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Doctor en Medicina
Veterinaria

AUTOR

Jimmy FLORES MENDOZA

ASESOR

Dr. William Arthur BARRIOS SANTOS

Lima, Perú

2024



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

Flores J. Desarrollo ontogénico de las placas de Peyer del íleon en alpacas (*Vicugna pacos*) [Tesis de doctorado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Unidad de Posgrado; 2024.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Jimmy Flores Mendoza
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	02416351
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-7629-7187
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	William Arthur Barrios Santos
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	41676357
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-5455-1321
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Raúl Héctor Rosadio Alcántara
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	08661836
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	María Elith Vásquez Cachay
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09945245
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Claudio Gustavo Barbeito
Tipo de documento	DNIX – LC - LE
Número de documento de identidad	14.922.728
Datos de investigación	
Línea de investigación	Anatomía Animal y Fauna Silvestre
Grupo de investigación	Anatomía Veterinaria (ANATOVET)

Agencia de financiamiento	Perú - Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación Tecnológica (FONDECYT) - Convenio N° 025-2016
Ubicación geográfica de la investigación	Camal Municipal de Huancavelica País: Perú Distrito: Huancavelica Provincia: Huancavelica Región: Huancavelica Altitud: 3660 msnm. Latitud: -12.790403 Longitud: -75.037373 Laboratorio de Anatomía Animal y Fauna silvestre, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. País: Perú. Departamento: Lima Provincia: Lima Metropolitana Distrito: San Borja Av. Circunvalación 2800, San Borja, Lima, Perú Latitud: -12.080729 Longitud: -76.987032 Laboratorio de Equipamiento Especializado, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. País: Perú. Departamento: Lima Provincia: Lima Metropolitana Distrito: Lima Av. Venezuela 15081, Lima, Perú Latitud: -12.059689 Longitud: -77.082113 Centro Avanzado de Diagnóstico por Imágenes, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de São Paulo. País: Brasil Estado: São Paulo Meso región: São Paulo Micro región: Butantã Av. Prof. Orlando Marques de Paiva, 87 Butantã, São Paulo - SP, 05508-270, Brasil Latitud: -23.569923 Longitud: -46.739470
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2018-2022
URL de disciplinas OCDE	Ciencia veterinaria https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.01 Anatomía, Morfología

	https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.01
--	---



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

En el Auditorio de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, siendo las 11:00 horas del día jueves 03 de octubre del 2024, el Jurado de Tesis, presidido por el Dr. Raúl Héctor Rosadio Alcántara y conformado por los siguientes miembros docentes: Dra. María Elith Vásquez Cachay, Dr. Claudio Gustavo Barbeito y Dr. William Arthur Barrios Santos (asesor), se dio inicio a la sustentación oral y pública de la Tesis titulada:

“Desarrollo ontogénico de las placas de Peyer del íleon en alpacas (*Vicugna pacos*)”,
presentado por el M.Sc.:

JIMMY FLORES MENDOZA

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: **MUY BUENO, (17) DIECISIETE**

A continuación, el Jurado por intermedio de su Presidente recomendó a la Unidad de Posgrado de la Facultad de Medicina Veterinaria, proponga el otorgamiento del Grado Académico de Doctor en Medicina Veterinaria, al M.Sc. Jimmy Flores Mendoza.

Siendo las 12:30 horas del día jueves 03 de octubre de 2024, se dio por concluido el acto académico, suscribiéndose la presente Acta.

Dr. Raúl Héctor Rosadio Alcántara (P.P.D.E.)

Presidente

Dra. María Elith Vásquez Cachay (P.P.D.E.)

Miembro

Dr. Claudio Gustavo Barbeito

Miembro

Dr. William Arthur Barrios Santos (P.A.D.E.)

Miembro

Dr. Cesar Miguel Gavidia Chucán (P.P.D.E.)

Director de la Unidad de Posgrado





Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Vicerrectorado de Investigación y Posgrado



CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, William Arthur Barrios Santos en mi condición de asesor acreditado con la Resolución Directoral N° 085-UPG-FMV-2019 de la tesis, cuyo título es "**Desarrollo ontogénico de las placas de Peyer del íleon en alpacas (*Vicugna pacos*)**", presentado por el M.Sc. Jimmy Flores Mendoza para optar el grado académico de Doctor en Medicina Veterinaria, CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante el software de similitud textual, el documento evaluado cuenta con el porcentaje de 4% de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional**.

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del grado/ título/ especialidad correspondiente.

Firma del Asesor

DNI: 43485699

Nombres y apellidos del asesor: WILLIAM ARTHUR BARRIOS SANTOS



Dedicatoria:

A mi familia:

Genaro Flores y Victoriana Mendoza
Claudio Romeri, Ruth Flores y Matteo Romeri
Romel Sanizo⁺, Ana Flores, Álvaro Sanizo y Enya Sanizo
Pedro Flores
Nancy Palomino y Sofía Flores

Porque cuando los veo, los escucho o los siento;
me veo, me escucho, me siento y me encuentro a mí mismo.
En esencia soy, lo que ustedes son, y es perceptible.
Mi inspiración y mis mejores esfuerzos es por y para ustedes.

A la memoria del Dr. Alberto Sato Sato⁺, guía, maestro y sobre todo amigo.

A todos los que buscan la verdad, en el abnegado trabajo de generar conocimientos.

Agradecimiento:

Al Dios de mis padres, que hace que todo sea posible. *¿Hay para Dios alguna cosa difícil? Al tiempo señalado volveré a ti, según el tiempo de la vida... Génesis 18:14.*

Al personal docente, administrativo y estudiantil del doctorado en Medicina Veterinaria, Unidad de Posgrado, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Al Dr. William Barrios Santos, asesor de la presente tesis.

Al Dr. Raúl Rosadio Alcántara, al Dr. Claudio Gustavo Barbeito y a la Dra. María Vásquez Cachay, miembros del jurado evaluador de la presente tesis.

Al personal directivo, administrativo y técnico del CONCYTEC, convenio N° 025-2016-FONDECYT, por el financiamiento de la presente investigación.

A los líderes, investigadores externos, investigadores locales, co-investigadores, personal administrativo y técnico del “Círculo de investigación en morfogénesis de los órganos linfoides e inmunitarios de la alpaca (*Vicugna pacos*)”.

Al equipo de investigación del proyecto “Caracterización del desarrollo del tracto intestinal en crías de alpacas”, convenio N° FINCYT PIBAP N° 65.

A la Dra. Miluska Navarrete Zamora, al Dr. Alexander Chávez Reátegui, al Dr. Francisco Santos Rueda y al Dr. Alberto Sato Sato⁺, responsables del laboratorio de Anatomía animal y fauna silvestre, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

A la Dra. Delia Foroca Mamani y al Ing. Edgar Taipe Quinto, responsables del camal municipal de Huancavelica.

A la Dra. María Angélica Miglino y a la Dra. Rose Elí Grassi Rici, responsables del Centro avanzado de diagnóstico por imágenes, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de São Paulo.

Al Lic. Ludy Aliaga Montesinos, responsable del laboratorio de Investigación, Universidad Nacional del Altiplano.

Al Blg. Víctor Alejandro Barremechea Loli, responsable del laboratorio de equipamiento especializado (LEE), Facultad de Biología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Al Dr. Telésforo Porcel Moscoso⁺, al Ing. Mauro Vela Da-Fonseca, al Ing. Joel Peña Valdiglesias, a la Dra. Roxana Madueño Portilla y al Dr. Hugo Dueñas Linares, colegas y autoridades de la Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios.

A todas las personas que fueron parte de esta noble, larga y bonita experiencia de estudios doctorales, cuyos nombres no figuran en esta lista, debido a que son muchos...

Por la confianza y apoyo brindado, muchas gracias. *¡Hice, lo que se debía hacer!*

ÍNDICE

Resumen	vi
Abstract	vii
Lista de cuadros	viii
Lista de figuras	ix
Lista de anexos	xi
Abreviaturas	xii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. La alpaca y las placas de Peyer: generalidades	3
2.2. Aspectos anatómicos	5
2.3. Estructura histológica	9
2.3.1. Epitelio asociado a folículo	11
2.3.2. Domo subepitelial	12
2.3.3. Área folicular	13
2.3.4. Área interfolicular	15
2.4. Características ultraestructurales	16
2.5. Ontogenia de las placas de Peyer	20
2.5.1. Desarrollo prenatal	20
2.5.2. Desarrollo postnatal	25
III. MATERIALES Y MÉTODOS	32
3.1. Lugar y periodo de ejecución	32
3.2. Material biológico	32
3.3. Consideraciones éticas	34
3.4. Metodología	34
3.4.1. Técnicas de recolección de muestras	34
3.4.2. Técnicas de estudio para anatomía	35
3.4.3. Técnicas de estudio para histología	36
3.4.4. Técnicas de estudio para microscopía electrónica de barrido	37
IV. RESULTADOS	38
4.1. Relación ontogénica entre el íleon de la alpaca y sus placas de Peyer	38
4.1.1. Ontogenia del íleon: aspectos anatómicos	38
4.1.2. Ontogenia del íleon: aspectos histológicos	44

4.2. Tipos de placas de Peyer en el íleon de la alpaca	47
4.2.1. Ontogenia de las placas de Peyer del íleon: aspectos anatómicos	47
4.2.2. Ontogenia de las placas de Peyer del íleon: aspectos histológicos	50
4.2.2.1. La estructura de copa	50
4.2.2.2. La cavidad crateriforme	51
4.3. Ontogenia de los compartimentos de las placas de Peyer del íleon de la alpaca	57
4.3.1. Area folicular	57
4.3.1.1. Ontogenia de las células de morfología linfoide	57
4.3.1.2. Formación de los folículos linfoides	59
4.3.1.3. Formación del centro germinal	60
4.3.1.4. Atrofia de los folículos linfoides	61
4.3.2. Area interfolicular	68
4.3.3. Domo sub epitelial	71
4.3.4. Epitelio asociado a folículo	78
V. DISCUSIÓN	80
VI. CONCLUSIONES	89
VII. BIBLIOGRAFÍA	91
VIII. ANEXOS	106

RESUMEN

Con el objetivo de describir los eventos ontogénicos de las placas de Peyer (*PP*, *Peyer's patches*) del íleon de la alpaca. Se estudiaron 82 muestras de íleon de especímenes fetos, crías y adultos utilizando técnicas de anatomía, histología y microscopía electrónica de barrido, las que fueron analizadas en las Facultades de Medicina Veterinaria, y Biología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos – Perú, y en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de São Paulo – Brasil. Los resultados mostraron que, las PP del íleon fueron estructuras discretas y aisladas, bajo dos tipos notoriamente diferentes: las PP de tipo copa en la porción proximal y las de tipo conos-crateriformes en la porción distal; además que, la disposición de los compartimentos linfoides fue influenciada por el tipo de PP en todo el proceso ontogénico. En la etapa prenatal, la cavidad crateriforme, fue evidenciable a partir de la 14.^a semana de gestación; mientras que, la estructura de copa lo fue a la 37.^a semana. La ontogenia de las PP, inició a partir de la 22.^a semana, con la observación de las células de morfología linfoide en el complejo lámina propia-submucosa; a la 28.^a semana, se observó el primer esbozo de un folículo linfoide solitario; y a la 34.^a semana, dos esbozos de folículos linfoides continuos; no obstante, la formación de las PP como tal, ocurrió a partir de la 37.^a semana, para que, en fetos de 46.^a semana, estuvieran completamente desarrolladas. En la etapa postnatal, se observó la formación de los centros germinales (*GC*, *germinal center*) en algunos folículos linfoides durante la primera semana de vida, entre la 3.^a a la 6.^a semana los GC estuvieron en casi la totalidad de ellos. En adultos menores de 6 años, aunque el desarrollo en ambos tipos de PP fue progresivo, en un espécimen se observó atrofia del tejido linfoide principalmente en el área folicular. El epitelio asociado a folículo se diferenció del epitelio del íleon, a partir de la 34.^a semana, estuvo compuesto por epitelio simple cilíndrico, que careció de células caliciformes; no obstante, presentó abundantes células de morfología linfoide y escasas células M; la presencia de estas dos últimas líneas celulares fue confirmada por microscopía electrónica de barrido. Se concluye que, las PP del íleon de la alpaca son particulares, principalmente las de tipo conos-crateriformes, las mismas que, a excepción de camélidos del viejo mundo, no fueron reportados en otras especies de mamíferos. Por otro lado, los eventos ontogénicos durante la etapa prenatal y perinatal, son similares a los mamíferos domésticos y roedores de laboratorio, aunque con diferencias en el tiempo de ocurrencia; mientras que, en la etapa adulta, si bien, se evidencia atrofia, no se confirma la involución completa de las PP.

Palabras claves: Alpaca, íleon, ontogenia, placas de Peyer.

ABSTRACT

With the aim of describing the ontogenetic events of Peyer's patches (PP) of alpaca (*Vicugna pacos*) ileum. A total of 82 ileum samples from fetal, offspring and adult specimens were studied using anatomy, histology and scanning electron microscopy techniques which were analyzed at the Faculties of Veterinary Medicine and Biology of San Marcos University – Peru, and at the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics of São Paulo University – Brazil. The results showed that the ileum PP were discrete and isolated structures, under two notoriously different types: cup-type PP in the proximal portion and crateriform cone-type PP in the distal portion. Moreover the arrangement of the lymphoid compartments was influenced by the type of PP throughout the ontogenetic process. In the prenatal stage, the crateriform cavity was evident from the 14th week of gestation; while the cup structure was at 37th week. The ontogeny of the PP began at 22nd week, with the observation of lymphoid morphology cells in the lamina propria-submucosa complex; at 28th week, the first outline of a solitary lymphoid follicle was observed; and at 34th week, two outlines of continuous lymphoid follicles; nevertheless, the formation of the PP as such, occurred from 37th week, so that in 46th week fetuses, they were fully developed. In the postnatal stage, germinal center (GC) was observed in some lymphoid follicles during the first week of life, between the 3rd to the 6th week GC were in almost all of them. In adults younger than 6 years, although development in both types of PP was progressive, in one specimen atrophy of lymphoid tissue was observed mainly in the follicular area. The follicle-associated epithelium differentiated from the epithelium of the ileum, from the 34th week, was composed of simple columnar epithelium, which lacked goblet cells; however, it presented abundant cells of lymphoid morphology and few M cells; the presence of these last two cell lines was confirmed by scanning electron microscopy. It is concluded that, the PP of the alpaca ileum are particular, mainly the cone-crateriform type, which with the exception of old world camelids, were not reported in other mammal species. On the other hand, ontogenic events during the prenatal and perinatal stage are similar to domestic mammals and laboratory rodents, but with differences in the time of occurrence; while, in adulthood, although atrophy is evident, complete involution of PP is not confirmed.

Key words: Alpaca, ileum, ontogeny, Peyer's patches, morphology

LISTA DE CUADROS

	Pag.
Cuadro 1: Etapas de gestación en algunas especies de mamíferos	20
Cuadro 2: Especímenes para el estudio ontogénico de las placas de Peyer del íleon de la alpaca	33
Cuadro 3. Anatomía de la ontogenia del íleon de la alpaca y sus placas de Peyer	39
Cuadro 4. Histología ontogénica de las placas de Peyer del íleon de la alpaca	67
Cuadro 5. Ultraestructura de barrido de la ontogenia de las placas de Peyer del íleon de la alpaca	74

LISTA DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1. Tipos de placas de Peyer en animales domésticos (Anatomía). A1, PP de yeyuno de equinos. A2, PP de íleon de equinos. B1, nódulos linfoides solitarios en porcinos. B2, válvula ileal con PP en porcinos. C1, PP de yeyuno en bovinos. C2, gran PP del íleon de bovinos. D1 y E1, PP en íleon proximal de camellos dromedarios. D2 y E2, PP en íleon distal de camellos dromedarios, F1, PP faviforme en camellos bactrianos. F2, PP en forma de copa en camellos bactrianos. F3, PP tipo quiste en camellos bactrianos	6
Figura 2. Estructura tisular de las placas de Peyer en mamíferos (Histología). A, esquema de la arquitectura histológica de PP de rata. B1, esquema histológico de PP de yeyuno de bovinos. B2, esquema histológico de PP del íleon de bovinos. C1, Vista panorámica de PP de íleon de rata adulta (HE 50X). C2, acercamiento de FAE y SED de placa de Peyer de rata (HE 400X). D1, FAE de PP de camellos dromedarios (HE 100X). D2, acercamiento del FAE de PP de camellos dromedarios (Azul de Toluidina 400X)	10
Figura 3. Tipos de domos en las placas de Peyer de mamíferos (SEM). A, rata. B, jerbo. C, macaco. D, E, humano. F, G, bovino. H, I, dromedario	17
Figura 4. Epitelio asociado a folículo en las placas de Peyer de mamíferos (SEM). A1, A2, humano. B, bovino. C, macaco	19
Figura 5. Técnica de muestreo de las placas de Peyer del íleon de la alpaca. A, distribución longitudinal de placas de Peyer en intestino delgado; las flechas señalan los puntos de reducción (p), proximal; (d), distal. B, Cortes histológicos de las muestras	35
Figura 6. Ontogenia del sistema digestivo <i>ex situ</i> de la alpaca (Anatomía). A, feto de 14.ª semana. B, feto de 32.ª semana. C, feto de 42.ª semana. D, espécimen de 3-6 años. las flechas señalan la porción proximal y distal del íleon	40
Figura 7. El íleon y la mucosa ileal de la alpaca (Anatomía). A intestino delgado extendido de feto de 32.ª semana de gestación. A1, mucosa del íleon de feto de 32.ª semana (imagen <i>ex situ</i> 8x). B, acercamiento de la mucosa del íleon de feto de 37.ª semana de gestación (imagen <i>ex situ</i> 12.5x). C, intestino delgado extendido de espécimen adulto, C1, mucosa del íleon de espécimen adulto. C2, acercamiento de la mucosa del íleon de espécimen adulto (imagen <i>ex situ</i> 12.5x)	41
Figura 8. Ontogenia de la porción distal del íleon de la alpaca (Histología). F1, F2 y F3, corte transversal del íleon (HE) de fetos de primer, segundo y tercer tercio de gestación respectivamente (la edad se expresa en semanas de desarrollo gestacional, y las imágenes del grupo F1 se duplicaron y se presentan a escala aumentada). C0, corte transversal del íleon (HE) de crías de 0 a 7 días de nacidas. C3, corte transversal del íleon (HE) de crías entre 21 a 45 días de nacidas. A, corte transversal del íleon (HE) de especímenes adultos entre 3 a 6 años	42
Figura 9. Ontogenia de la porción proximal del íleon de la alpaca (Histología). F1, F2 y F3, corte longitudinal del íleon (HE) de fetos de primer, segundo y tercer tercio de gestación respectivamente (la edad se expresa en semanas de desarrollo gestacional). C0, corte transversal del íleon (HE) de crías de 0 a 7 días de nacidas. C3, corte transversal del íleon (HE) de crías entre 21 a 45 días de nacidas. A, corte transversal del íleon (HE) de especímenes adultos entre 3 a 6 años	43

Figura 10. Curva de crecimiento del íleon de la alpaca. E, etapa embrionaria. F1, F2, F3, fetos de primer, segundo y tercer tercio de gestación respectivamente. C0, crías de 0 a 7 días de nacidas. C3, crías entre 21 a 45 días de nacidas. A, especímenes adultos entre 3 a 6 años	44
Figura 11. Ontogenia del íleon de la alpaca (Histología). A, feto de 9. ^a semana de gestación (HE 10x). B, feto de 28. ^a semana de gestación (HE 40x). C, feto de 32. ^a semana de gestación (Tricrómico de Masson 40x). D, feto de 46. ^a semana de gestación (HE 4x). E, cría de 7. ^o día de vida (HE 4x). F, adulto de 3 a 6 años (Tricrómico de Masson 4x)	46
Figura 12. Ontogenia del epitelio de íleon de la alpaca (Histología). A, feto de 11. ^a semana de gestación (HE 40x). B, feto de 46. ^a semana de gestación (HE 63x). C, cría de 7. ^o día de vida (HE 63x). D, adulto de 3 a 6 años (HE 63x)	47
Figura 13. Ontogenia de las placas de Peyer del íleon de la alpaca (Anatomía). Columna izquierda: feto de 42. ^a semana de gestación. A1, placa de Peyer tipo copa; A2, placa de Peyer tipo cono-crateriforme; A3, curvatura exterior del íleon. Columna derecha: espécimen adulto. B1, placa de Peyer tipo copa; B2, placa de Peyer tipo cono-crateriforme; B3, placa de Peyer con coloración rojisa	49
Figura 14. Ontogenia de las estructuras de las placas de Peyer del íleon de la alpaca, durante el primer tercio de gestación (Histología). A, corte transversal de la porción distal del, las flechas señalan la cavidad crateriforme. B, íleon en feto de 11. ^a semana de gestación (HE 40x), la flecha señala grupo de células en evaginación. C, íleon de feto de 14. ^a semana de gestación (HE 40x)	53
Figura 15. Ontogenia de las estructuras de las placas de Peyer del íleon de la alpaca, durante el segundo tercio de gestación (Histología). A, corte longitudinal de la porción proximal del íleon (HE). B, corte transversal de la porción distal del íleon (HE)	54
Figura 16. Ontogenia de las estructuras de las placas de Peyer del íleon de la alpaca, durante el tercer tercio de gestación (Histología). A, corte longitudinal de la porción proximal del íleon (HE), las flechas señalan las placas de Peyer dentro de estructuras de copa. B, corte transversal de la porción distal del íleon (HE)	55
Figura 17. Ontogenia de las estructuras de las placas de Peyer del íleon de la alpaca, en crías y adultos (Histología). A, corte transversal de la porción proximal del íleon (HE), las flechas señalan las estructuras de copa. B, corte transversal de la porción distal del íleon (HE)	56
Figura 18. Ontogenia de las poblaciones celulares de la submucosa del íleon de la alpaca, en las primeras semanas de gestación (Histología). Primera fila: feto de 9. ^a semana de gestación; A, corte transversal del íleon; A1 y A2, células de la submucosa del íleon (HE 40x). Segunda fila: feto de 11. ^a semana de gestación; B, corte transversal del íleon. B1 y B2, células de la submucosa y de las evaginaciones del íleon (HE40x). Tercera fila: feto de 20. ^a semana de gestación; C, corte transversal del íleon; C1 y C2, células de la submucosa del íleon (HE 40x)	58
Figura 19. Ontogenia del área folicular de las placas de Peyer del íleon de la alpaca, durante la etapa fetal (Histología). Primera fila: feto de 26. ^a semana de gestación; A, corte transversal del íleon. A1 y A2, células de morfología linfoide en la submucosa (HE 10x y	62

40x). Segunda fila: feto de 28.^a semana de gestación; B, corte transversal del íleon. B1 y B2, esbozo de folículo linfoide solitario en cavidad crateriforme (HE 10x y 40x). Tercera fila: feto de 28.^a semana de gestación C, corte longitudinal del íleon. C1 y C2, células linfoides agrupadas en la submucosa del íleon (HE 10x, 63x)

Figura 20. Ontogenia del área folicular y demás compartimentos de las placas de Peyer del íleon de la alpaca, durante la etapa fetal (Histología). Primera fila: feto de 34.^a semana de gestación; A, corte transversal del íleon; A1 y A2, folículos linfoides continuos en la cavidad crateriforme (HE 10x, 40x). Segunda fila: feto de 37.^a semana de gestación; B, corte transversal del íleon; B1 y B2, folículo linfoide solitario en la cavidad crateriforme (HE 10x, 40x). Tercera fila: feto de 40.^a semana de gestación; C, corte transversal del íleon; C1 y C2, GALT de placa de Peyer en la submucosa del íleon (HE 10x, 40x)

63

Figura 21. Ontogenia de las placas de Peyer del íleon de la alpaca, en fetos próximos al nacimiento (Histología). Columna izquierda: feto de 44.^a semana de gestación; B, corte transversal del íleon; B1, placa de Peyer de tipo conos-crateriformes (HE 4x); B2, folículo linfoide (HE 40x); B3, células de folículo linfoide (HE). Columna derecha: feto de 46.^a semana; C1, vista panorámica del GALT de placa de Peyer de tipo conos-crateriformes (HE 4x); C2, placa de Peyer de tipo conos-crateriformes (HE 10x); C3, células de folículo linfoide (HE)

64

Figura 22. Ontogenia de las placas de Peyer del íleon de la alpaca, durante la etapa neonatal (Histología). A, Vista panorámica de las PP en corte transversal del íleon de cría de 7 días. A1, A2 y A3, acercamiento a compartimentos y folículo linfoide (HE 4x, 10x y 63x). B, Vista panorámica de las PP en corte transversal del íleon de cría de 42 días. B1, B2 y B3, acercamiento a compartimentos y folículo linfoide (HE 4x, 10x y 63x)

65

Figura 23. Ontogenia de las placas de Peyer del íleon de la alpaca, durante la etapa adulta (Histología). A, A1, placa de Peyer tipo copa (HE 4x). B, B1, placa de Peyer tipo cono-crateriforme (HE 4x). B2, compartimentos de placa de Peyer (HE 10x). B3, células de folículo linfoide (HE 40x). C, C1, placa de Peyer tipo cono-crateriforme (HE 10x). C2, células de folículo linfoide (HE 40x)

66

Figura 24. Ontogenia de los compartimentos de las placas de Peyer del íleon en alpaca, durante la etapa prenatal (Histología). A, Feto de 34.^a semana de gestación (HE 40x). B, Feto de 40.^a semana de gestación (HE 10x). C, Feto de 42.^a semana de gestación (Tricrómico de Masson, 10x). D, Feto de 42.^a semana de gestación (HE 10x). E y F Feto de 46.^a semana de gestación (HE, 10x, 40x)

69

Figura 25. Ontogenia de los compartimentos de placas de las Peyer del íleon de la alpaca, durante la etapa postnatal (Histología). Columna izquierda: espécimen cría de 21 días; A, placa de Peyer tipo cono-crateriforme (HE 4x); A1, compartimentos de placa de Peyer (HE, 10x). A2, área interfolicular (HE 40x). Columna derecha: espécimen adulto; B, placa de Peyer tipo cono-crateriforme (TM 4x); A1, compartimentos de placa de Peyer (HE, 10x); A2, área interfolicular (HE 40x)

70

Figura 26. Ontogenia del epitelio asociado a folículo de las placas de Peyer del íleon de la alpaca, durante la etapa prenatal (Histología). A, Feto de 34.^a semana de gestación (HE 40x). B, Feto de 37.^a semana de gestación (HE 40x). C, Feto de 40.^a semana de gestación (HE 40x). D, Feto de 44.^a semana de gestación (HE 40x). E, F, Feto de 46.^a semana de gestación (HE 40x), placa de Peyer tipo copa y cono-crateriforme respectivamente

72

Figura 27. Ontogenia del epitelio asociado a folículo de las placas de Peyer del íleon de la alpaca, durante la etapa postnatal (Histología). A, Especímen cría de 7 días de nacido (HE 40x). B, Especímen cría de 25 días de nacido (HE 40x). C, Especímen adulto (HE 10x). D, Especímen adulto (HE 40x) 73

Figura 28. Ontogenia del domo subepitelial de las placas de Peyer del íleon de la alpaca (SEM). A, A1, Mucosa del íleon de feto de 34.a semana, la flecha señala domo solitario de GALT. B, domos de placa de Peyer tipo copa de feto de 44.a semana. C, domos de placa de Peyer tipo cono-crateriforme de feto de 44.a semana. D, domos de placa de Peyer tipo copa de especímen adulto. D, domos de placa de Peyer tipo cono-crateriforme de especímen adulto. F, domos de placa de Peyer tipo cono-crateriforme de especímen adulto 75

Figura 29. Ontogenia del domo subepitelial y del epitelio asociado a folículo de las placas de Peyer del íleon de la alpaca, durante la etapa prenatal (SEM). Columna izquierda: placa de Peyer tipo copa de feto de 44.^a semana de gestación; A y A1, domos de placas de Peyer. Columna derecha: placa de Peyer tipo cono-crateriforme de feto de 44.^a semana de gestación; B y B1, domos de placas de Peyer. C, domo piramidal solitario de placa de Peyer tipo copa de feto de 34.^a semana 76

Figura 30. Ontogenia del domo subepitelial y del epitelio asociado a folículo de las placas de Peyer del íleon de la alpaca, durante la etapa adulta (SEM). Primera fila: placa de Peyer tipo copa; A1 y A2, domos piramidales de placas de Peyer. Segunda y tercera fila: placa de Peyer tipo conos-crateriformes; B1 y B2, domos piramidales de placas de Peyer; C1 y C2, domos hemisféricos de placas de Peyer. D, células M del linfoepitelio. E, linfocito asociado a célula M 77

LISTA DE ANEXOS

	Pag.
Anexo 1. Especímenes para el estudio ontogénico de las placas de Peyer del íleon de la alpaca	105
Anexo 2. Protocolo de microscopia electrónica de barrido	109

ABREVIATURAS

A	:	Adultos
AM	:	pliegue antimesenterial
C0	:	crías menores de una semana
C3	:	crías entre 3 a 6 semanas
CL	:	criptas de Lieberkühn
cC	:	célula caliciforme
cE	:	célula epitelial
cI	:	células de núcleo irregular
cF	:	células de núcleo fusiforme
cL	:	células de morfología linfoide.
cLg	:	células de morfología linfoide de tamaño grande
cLm	:	célula de morfología linfoide en mitosis
cE	:	célula de morfología estrellada
cM	:	célula M
Cant	:	cantidad
CADI	:	Centro Avanzado de Diagnóstico por Imágenes
CEBA	:	comité de ética y bienestar animal
d	:	porción distal del íleon
DBP	:	diámetro biparietal
DPA	:	<i>densely populated area</i>
DO	:	desarrollo ontogénico
DS	:	desviación estándar
Em	:	evaginación de la mucosa
e	:	epitelio
eFL	:	esbozo de folículo linfoide
F1	:	fetos de primer tercio de gestación
F2	:	fetos de segundo tercio de gestación
F3	:	fetos de tercer tercio de gestación
FA	:	<i>follicular area</i>
FAE	:	<i>follicle associated epithelium</i>
fC	:	fibras conjuntivas colágenas
FL	:	folículo linfoide
GALT	:	<i>Gut-associated lymphoid tissue</i>

GC	:	<i>germinal center</i>
HE	:	Hematoxilina de Mayer y Eosina
HEV	:	<i>high endothelial venules</i>
IVITA	:	Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura
ICVGAN	:	Nomenclatura Anatómica Veterinaria
ILF	:	<i>isolated or solitary lymphoid follicle</i>
IFA	:	<i>interfollicular area</i>
ILE	:	<i>Intraepithelial Lymphocytes</i>
L	:	lumen
LC	:	<i>Lymphoglandular complex</i>
LEE	:	Laboratorio de Equipamiento Especializado
M	:	mesenterio
m	:	capa muscular
max	:	valor máximo observado
min	:	valor mínimo observado
NO	:	No observado
P	:	momento del parto
p	:	porción proximal del íleon
PP	:	<i>Peyer's patches</i>
IPP	:	<i>ileal Peyer's patches</i>
JPP	:	<i>jejunal Peyer's patches</i>
prom	:	promedio
Q	:	cavidad crateriforme
s	:	capa serosa
SED	:	<i>subepithelial dome</i>
SEM	:	<i>Scanning Electron Microscopy</i>
sem	:	semanas
sm	:	capa submucosa
SENASA	:	Servicio Nacional de Sanidad Agraria
TPA	:	<i>thinly populated area</i>
UNMSM	:	Universidad Nacional Mayor de San Marcos
V	:	vellosidades intestinales
vs	:	vasos sanguíneos

I INTRODUCCION

La alpaca (*Vicugna pacos*), se caracteriza por su gran rusticidad, está adaptada a condiciones de habitud extremos sobre los 4000 msnm, donde la disponibilidad de pastos y agua es escasa, debido a la estacionalidad de las lluvias (San Martín y Van Saun, 2014). En el Perú, la crianza de alpacas es una actividad trascendente, porque brinda sustento social a un sector importante de la población altoandina (Bustanza, 2001, Quispe *et al.*, 2009); sin embargo, los rebaños alpaqueros reportan altas tasas de morbilidad y mortalidad, donde las enfermedades del complejo entérico desempeñan un rol causal significativo (Ameghino, 1991; Rosadio *et al.*, 2012).

La mucosa intestinal abarca un gran área de extensión, y al estar en contacto con el bolo alimenticio queda expuesta a antígenos saprófitos y patógenos (Castro y Villa, 2015); no obstante, esta cuenta con un sofisticado sistema de defensa denominado como el tejido linfoide asociado a intestino (*GALT, Gut-associated lymphoid tissue*), dentro del cual destacan las placas de Peyer (*PP, Peyer's patches*); en la mayoría de especies de mamíferos se distribuyen a lo largo del intestino delgado, pero son especialmente notorias en el íleon (Nickel *et al.*, 1979).

Los aspectos morfológicos de las PP varían con respecto a la especie, edad, región intestinal y tipo de dieta. Los bovinos, ovinos y porcinos, en el yeyuno presentan PP discretas (*JPP, jejunal Peyer's patches*), éstas se asemejan a las PP del intestino delgado de humanos y roedores de laboratorio; mientras que, en el íleon se observa una PP continua, a manera de una larga y estrecha banda que abarca casi todo el íleon (Liebler-Tenorio y Pabst, 2006). En camellos bactrianos, aunque se reportan cuatro tipos de PP en el intestino delgado; en el íleon, y de forma

similar a los camellos dromedarios, sólo se observan las PP de tipo de copa y las PP de tipo conos elevados o quistes (Alluwaimi *et al.*, 1998; Zidan y Pabst, 2008; Qi *et al.*, 2011).

Con respecto al desarrollo ontogénico; en la mayoría de mamíferos, las PP usualmente aparecen entre el segundo y tercer tercio de gestación; pero el desarrollo y madurez abarca las últimas semanas de gestación, así como la etapa postnatal (Heel *et al.*, 1997). En la etapa adulta, las PP de los roedores de laboratorio están en todo el intestino delgado. Sin embargo, en bovinos, ovinos y porcinos, la PP continua del íleon, que está relacionada con la generación de linfocitos B, y semejante a los órganos linfoides primarios como la burza aviar, involucionan completamente; siendo las JPP permanecen por el resto de la vida del animal (Reynaud *et al.*, 1991; Lie *et al.*, 2005).

Actualmente, se han conducido varios estudios acerca del sistema inmune del tracto digestivo de la alpaca. Se conoce aspectos morfológicos de la ontogenia del epitelio intestinal y de las células de Paneth (Vásquez *et al.*, 2016; Vásquez, 2021), también se sabe que, al nacimiento las PP se encuentran completamente desarrolladas, con dinámica linfoide muy activa durante las primeras semanas de vida, que varía con respecto a la región intestinal (Roca *et al.*, 2014). No obstante, aún se desconocen muchas particularidades de la morfología de las PP.

Por tanto, este trabajo al emplear técnicas de anatomía, histología y microscopía electrónica de barrido (*SEM, Scanning Electron Microscopy*), tiene por objetivo describir cronológicamente los eventos morfológicos, que ocurren en la ontogenia de las PP del íleon de la alpaca, incluyendo especímenes de etapa fetal, neonatal y adulta; y así asentar antecedentes de la morfología ontogénica de este órgano linfoide, e inferir en futuros estudios acerca del rol que desempeñan en la fisiología y patología de la respuesta inmune de esta especie oriunda y representativa de nuestro país.

II REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1. La alpaca y las placas de Peyer: generalidades

La alpaca, es una especie que pertenece al grupo de camélidos sudamericanos, se clasifican junto con los camélidos del viejo mundo en el orden *Artiodactyla* y sub orden *Tylopoda* porque su existencia se remonta a un ancestro común (Stanley *et al.*, 1994; Cui *et al.*, 2007; Burger, 2016). En el Perú, la crianza de alpacas está asociada a sistemas familiares, ubicados en la región Puna, a altitudes entre 3600 y 5000 msnm, donde la estación de lluvias ocurre entre diciembre a marzo, seguido de un largo período de sequía caracterizada por excesiva variación del clima que dura entre 7 a 8 meses, en estas condiciones la disponibilidad de alimentos y agua son escasos (San Martín y Van Saun, 2014; Huanca, 2020).

Aunque frecuentemente se las asocia con las especies de rumiantes, los camélidos no son verdaderos rumiantes; presentan tres diferentes compartimentos estomacales denominados como: el compartimento 1, el compartimento 2 y el compartimento 3 (*C1, C2 y C3 respectivamente*); a diferencia de los rumiantes convencionales que presentan: el rumen, el retículo, el omaso y el abomazo (Fowler, 2010; Vater y Maierl, 2018). Sin embargo, el C1 está expandido y es similar en muchos aspectos al rumen, debido a que en este lugar ocurre la fermentación microbiana de los alimentos, desencadenando en la remasticación del bolo alimenticio (Van Saun, 2009).

El intestino delgado abarca una gran área de extensión, y al estar en contacto con el bolo alimenticio, está expuesto a antígenos saprófitos y patógenos (Tizard, 2009); no obstante, el organismo animal ha desarrollado mecanismos de defensa naturales y adquiridos entre los que

destacan: la microbiota saprofita, la capa de moco, el epitelio que recubre la mucosa, las organizaciones linfoides difusas o foliculares y los nódulos linfáticos del mesenterio (Frey *et al.*, 1996; Geneser, 2005). Sin embargo, el principal mecanismo de inmunidad celular es el tejido linfoide que se encuentran concentradas en organizaciones conglomeradas denominadas placas de Peyer (Roitt, 2002; Rojas, 2015).

El moco que recubre la mucosa intestinal, es secretado por las células caliciformes que se encuentran en las vellosidades y criptas de Lieberkuhn (Rojas, 2015); contiene: glicoproteínas de mucina tipo MUC2, y moléculas bioactivas de unión a epitelio como: las mucinas de tipo MUC1, MUC3, MUC17 y otros péptidos asociados, que resulta en una sustancia de alta viscosidad (Kim y Ho, 2010). En ratas, ratones y humanos, la producción está condicionada al microentorno del lumen; se ha reportado pérdida o disminución en la secreción, al estímulo con Carbacol o Prostigilina E2 (Ermund *et al.*, 2013), el moco se adhiere al epitelio por uniones electroquímicas del glicocalix (Pelaseyed *et al.*, 2014). En camellos dromedarios, el moco es rico en ácidos carboxílicos neutros y pobre en ácidos sulfatados; los compuestos neutros se encuentran en mayor concentración en las vellosidades, y las ácidas en las criptas de Lieberkühn (Korkmaz y Kum, 2016).

El tejido linfoide asociado a intestino (*GALT, Gut-associated lymphoid tissue*), se encuentra distribuido estratégicamente a lo largo del intestino y es capaz de accionar los mecanismos de respuesta inmune celular específica (Nishikawa *et al.*, 2003; Rojas, 2015; Chase y Kaushik, 2019). La clasificación del GALT comprende: las PP, el apéndice, los folículos linfoides aislados (*ILF, Isolated or solitary lymphoid follicle*), las vellosidades repletas de linfocitos, los complejos linfoglandulares (*LC, Lymphoglandular complex*) y las criptoplaquetas (Brandtzaeg *et al.*, 2008).

La primera publicación acerca de las PP, fue realizada por el anatomista y naturalista suizo Johann Conrad Peyer en 1677, las describió como áreas protuberantes y elevadas compuestas por nódulos linfáticos ubicadas en la membrana mucosa del intestino delgado, principalmente del íleon; debido a esto, estas estructuras anatómicas llevan su nombre (Schmidt, 1959). Las PP, actúan en coordinación con los nódulos linfáticos mesentéricos, pero la relación entre estos, solo se da mediante vasos linfáticos eferentes, es decir los antígenos no provienen de la linfa aferente, sino que son tomados y procesados del lumen intestinal (Makala *et al.*, 2002; Tresguerres, 2005).

2.2. Aspectos anatómicos

Macroscópicamente, en el intestino delgado de los mamíferos, se reconocen, los nódulos linfoides solitarios y las PP o nódulos linfoides agrupados; los primeros son acumulaciones de linfocitos visibles en la mucosa intestinal, a manera de diminutos tubérculos del tamaño de un grano de mijo (Getty, 2001); mientras que, las PP son estructuras variables en morfología, dimensión, cantidad y ubicación, aunque aparentemente se distribuyen en todo el intestino delgado, existe importantes diferencias, con respecto al segmento intestinal (Nickel *et al.*, 1979).

En humanos, las PP del intestino delgado habitualmente son estructuras ovaladas o de forma rectangular, que se ubican en el borde antimesentérico del duodeno e íleon distal y ocasionalmente en el yeyuno proximal; algunas PP atípicas de formas serpenteantes o ramificadas, se ubican aleatoriamente en los bordes intestinales del yeyuno proximal, alrededor del íleon y la válvula cecal (Cornes, 1965). Por su parte, Van Kruiningen *et al.*, (2002) reporta que las PP se distribuyen en mayor densidad en las porciones finales del intestino delgado; así los últimos 2 m del intestino concentran el 46% del GALT. En el íleon, se observa un anillo de tejido linfoide, que abarca el área de 10 a 15 cm anterior a la válvula ileal.

En ratones, las PP son abundantes en el intestino delgado, se encuentran generalmente en el borde antimesentérico y externamente pueden ser detectables con facilidad a través de la serosa (Abe e Ito, 1977; Scudamore, 2014; Treuting *et al.*, 2018); en la mucosa se observan como masas blancas nodulares ligeramente protuberantes, que miden entre 1.5 a 3 mm de diámetro, la cantidad varía entre 6 a 12, usualmente aumentan en cantidad y tamaño en la región distal (Abe e Ito, 1977).

En conejos, las PP en tamaño promedian: 7 mm de ancho por 10 mm de largo; se ubican en el borde antimesentérico, en cantidad fluctúan entre 2 a 10 unidades; siendo más frecuentes hacia la parte distal del intestino (Faulk *et al.*, 1970). En la porción terminal del íleon, se observa el bulbo ileal (*sacculus rotundus*); esta estructura, es visible por todos los bordes del íleon excepto por el lado opuesto del ciego; corresponde a un área dilatada de paredes muy gruesas, que aloja una voluminosa masa de nódulos linfáticos (Barone, 1997).

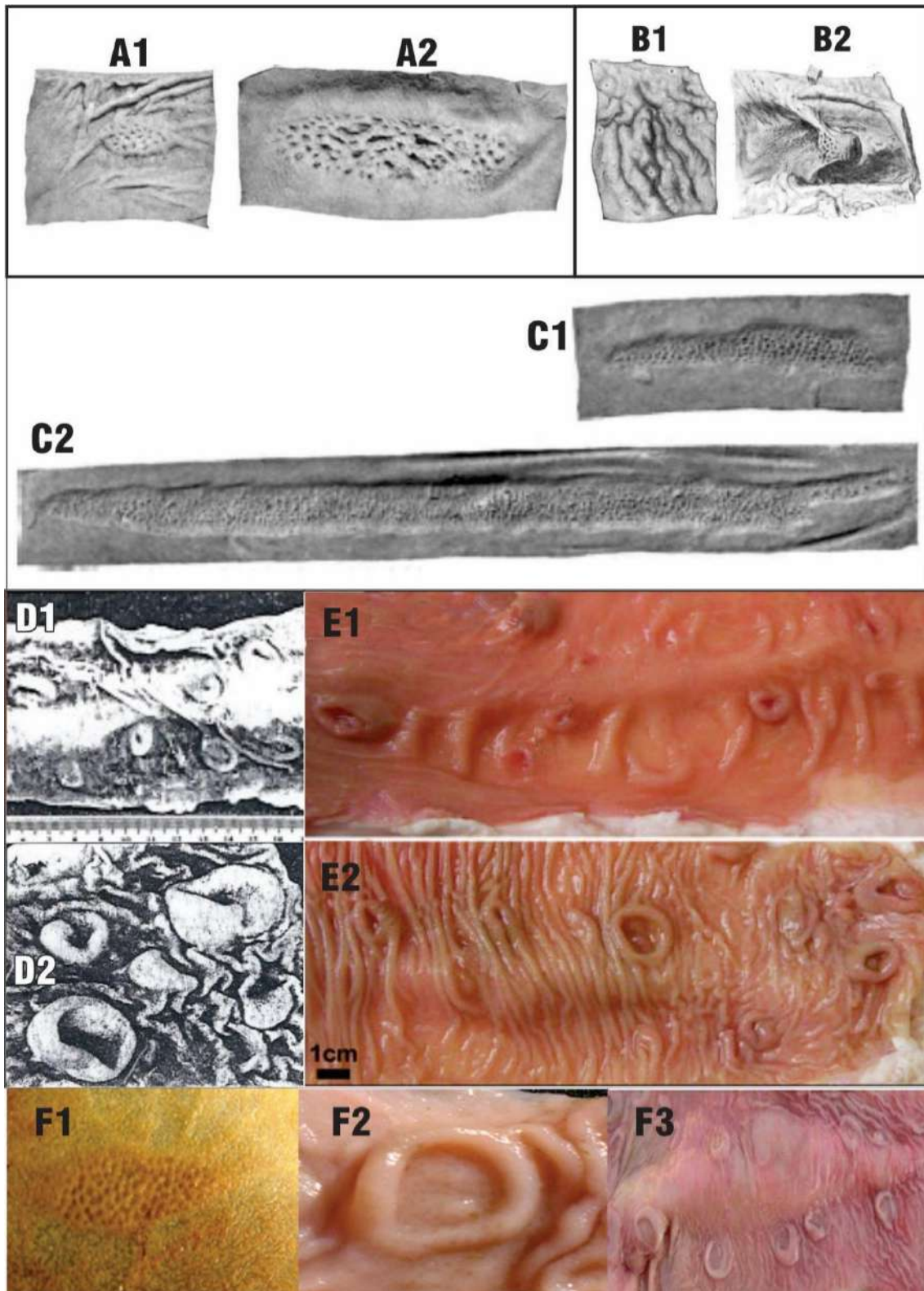


Figura 1. Tipos de placas de Peyer en animales domésticos (Anatomía). A1, PP de yeyuno de equinos. A2, PP de íleon de equinos. B1, nódulos linfoides solitarios en porcinos. B2, válvula ileal con PP en porcinos. C1, PP de yeyuno en bovinos. C2, PP continua del íleon de bovinos. D1 y E1, PP en íleon proximal de camellos dromedarios. D2 y E2, PP en íleon distal de camellos dromedarios, F1, PP faviforme en camellos bactrianos. F2, PP en forma de copa en camellos bactrianos. F3, PP tipo quiste en camellos bactrianos. Imágenes obtenidas de: Alluwaimi *et al.*, 1999; Getty, 2001; Zidan y Pabst 2008; Qi *et al.*, 2011.

En caninos domésticos, las PP presentan formas redondas, ovaladas o alargadas; se elevan ligeramente por encima de la mucosa, su superficie de relieve es nodular y miden entre 0.3 a 1.1 cm de ancho por 7 a 8.2 cm de largo, se ubican en el borde antimesentérico del intestino delgado, en cantidades de 20 a 25 (Nickel *et al.*, 1979). En el extremo distal del íleon, contiguo a la válvula ileal, y sobre todo en perros jóvenes, se observa una PP grande, semejante a una banda que alcanza a medir entre 10 a 40 cm de longitud (Getty, 2001). En gatos, aunque la cantidad de PP es entre 5 a 6, estas miden entre 1 a 3 cm de largo, y similar a los caninos se reporta una PP grande en el íleon que mide de 5 a 8 cm (Barone, 1997).

En rumiantes domésticos, se reconocen dos tipos de PP en el intestino delgado; las placas de Peyer de yeyuno (*JPP*, *jejunal Peyer's patches*) y las placas de Peyer del íleon (*IPP*, *ileal Peyer's patches*), las primeras son estructuras discretas ubicadas en yeyuno y la porción anterior del íleon, mientras que, dentro de las IPP, destaca notablemente una PP continua del íleon, grande en tamaño y que abarca casi todo el íleon (Reynolds y Morris, 1983; Landsverk, 1984; Haley, 2003); se han reportado importantes diferencias en la fisiología inmune entre estos dos tipos de PP (Reynolds y Kirk, 1989).

Las PP discretas, aunque presentan diversas formas, son de tamaño relativamente pequeños, miden 2 cm de ancho por 25 cm de largo; la superficie que la recubre presenta elevaciones y depresiones debido a la presencia de los folículos linfoides (Figura 1C1); en bovinos, se registran entre 20 a 40 JPP, distribuidas usualmente en el borde antimesentérico (Landsverk, 1984); por otra parte, en ovinos y caprinos, se registran entre 18 a 40 JPP y entre 25 a 30 JPP respectivamente, alcanzando a medir hasta 15 cm (Nickel *et al.*, 1979; Barone, 1997).

La PP continua del íleon de los rumiantes, se asemeja a una extensa banda de gran tamaño, alcanza a medir varios metros, se observa hacia el extremo distal del íleon y muchas veces se extiende hasta el intestino grueso (Figura 1C2) (Nickel *et al.*, 1979; Landsverk *et al.*, 1991; Getty, 2001). En corderos jóvenes, en promedio miden 3.5 cm de ancho por 2.5 m de largo, llegando a ocupar gran parte del íleon, lo que representa el 90% del tejido linfóide del intestino delgado (Reynolds y Morris, 1983; Liebler-Tenorio y Pabst, 2006); en terneros, abarca el 75% de la circunferencia del intestino y representa el 15% del tejido linfóide del intestino (Landsverk, 1984).

En porcinos, la mucosa del intestino delgado, presenta abundante cantidad de nódulos linfoides solitarios, de color blanquecino, que miden entre 0.1 a 0.2 cm diámetro (Figura 1B1). Las JPP, son de apariencia irregular, cuyas superficies presentan pequeñas depresiones, miden varias decenas de centímetros y se ubican en yeyuno e íleon proximal, en cantidades de 20 a 30

(Pabst *et al.*, 1988; Barone, 1997); por otra parte, la PP continua del íleon se ubica en la porción distal, y tiene forma de banda prominente (Getty, 2001), alcanzando la extraordinaria longitud de 1.1 a 3.2 m, muchas veces llega a extenderse hasta el colon (Figura 1B2) (Nickel *et al.*, 1979; Pabst *et al.*, 1988).

En equinos, se observa grandes cantidades de PP en el intestino delgado, ubicadas principalmente a lo largo del borde antimesentérico, en cantidad se registran entre 100 a 200 PP, que miden entre 0.2 a 1.4 cm de ancho, por 2 a 5 cm de largo. En la porción terminal del íleon de caballos jóvenes, las PP son de mayor tamaño pudiendo alcanzar longitudes de 0.5 a 2.5 cm de ancho por 17 a 38 cm de largo (Figura 1A1, 1A2) (Getty, 2001); no obstante, la PP continua del íleon, observada comúnmente en rumiantes y cerdos esta ausente (Nickel *et al.*, 1979).

En camellos bactrianos, Qi *et al.*, (2011) diferenciaron cuatro tipos de PP en el intestino delgado: las PP de tipo nodular, se ubica en el duodeno, y miden entre 0.2 a 0.5 cm de diámetro. Las PP de tipo faviforme, adopta formas redondas, ovaladas, de huso, rectangulares, triangulares, o irregulares, presentan superficie cribosa, miden de 0.1 a 0.2 cm de ancho, por 1.8 a 3 cm de largo, se distribuyen principalmente en el yeyuno (Figura 1F1). Las PP de tipo copa, presentan el contorno liso y elevado, pero el medio ahuecado de aspecto criboso, se encuentran en el yeyuno hasta la parte media del íleon (Figura 1F2). Las PP de tipo quiste, se ubican en la porción distal del íleon, al interior presentan zonas cribosas recubiertas por un área lisa, miden entre 0.4 a 0.2 cm de ancho, por 3 a 2.6 cm de largo (Figura 1F3).

En camellos dromedarios, las PP del íleon son de tipo copa, estas se elevan cerca de 1 cm sobre la mucosa, y el fondo presenta de 1 a 3 nódulos protuberantes; en cantidad se observa entre 10 a 13 PP en el borde antimesentérico (Figura 1D1); no obstante, cerca de la válvula ileal las copas son más prominentes, adoptando formas similares a grandes conos (Figura 1D2) (Alluwaimi *et al.*, 1998). De manera similar Zidan y Pabst, (2008) reportaron que las PP del íleon son estructuras aisladas y de tipo copa, con 1 a 3 nódulos centrales en su interior; se distribuyen en tres filas irregulares, quedando la fila central en el borde antimesentérico; mientras que, las otras dos filas se extienden lateralmente, en algunos especímenes, las PP están coloreados de rosa oscuro (Figura 1E1, 1E2).

En alpacas adultas de 2 a 8 años de edad, macroscópicamente las PP, no son visibles en todos los animales; sin embargo, en los especímenes observables la distribución se da en todo el trayecto intestinal, pero son más evidentes en la porción ileocecal; en duodeno y yeyuno son principalmente pequeñas de 0.2 a 2 cm de diámetro, mientras que, en el íleon son estructuras

grandes y ovaladas que miden entre 1.5 a 2 cm de diámetro, muchas veces presentan superficie cribosa, éstas PP son más numerosas que en el resto del intestino (Fernández *et al.*, 1999).

2.3. Estructura histológica

El tejido linfoide de las PP, se encuentra alojado en la lámina propia y la submucosa del intestino delgado, organizado bajo la forma nodular y difusa (Piezzi y Fornés, 2006; Bacha y Bacha, 2012); la arquitectura de las PP, consta de compartimentos, y áreas delimitadas, conformadas por células especializadas (González y Barbeito, 2014). Los primeros estudios de PP, fueron realizados en conejos (Faulk *et al.*, 1970), ratones (Sobhon, 1971; Abe e Ito, 1977) y ratas (Sminia *et al.*, 1983) indican que la organización nodular esta conformada por folículos linfoides, que son el componente más importante, estos se subdividen en sub-áreas de acuerdo a la morfología de sus linfocitos y se encuentran rodeados por los demás compartimentos como son: el área interfolicular, el área subepitelial y el linfoepitelio (Figura 2A).

Actualmente, en la mayoría de los mamíferos domésticos, aunque existe diferencias histológicas relacionadas a la especie, edad, nutrición y factores genéticos, todas las PP contienen los mismos compartimentos básicos como son: el epitelio asociado a folículo (*FAE, follicle associated epithelium*), el domo subepitelial (*SED, subepithelial dome*), el área folicular (*FA, follicular area*) y el área interfolicular (*IFA, interfollicular area*) (Ferrufino *et al.*, 1996; Gebert *et al.*, 1996; Cesta, 2006; Pedrera *et al.*, 2009; Castro y Villa, 2015).

En bovinos, ovinos, caprinos y porcinos, el tejido linfoide de las PP se encuentra cerca de la superficie de la mucosa intestinal, organizado en grandes complejos de folículos agregados (Liebler -Tenorio y Pabst, 2006); se reportan diferencias morfológicas de las PP en relación a la especie, estado fisiológico y sobretudo al tipo de PP (Landsverk *et al.*, 1991); la arquitectura de los compartimentos de la PP continua del íleon, difieren notablemente respecto a las JPP, siendo peculiares a lo reportado en otras especies (Figura 2B1 y 2B2) (Reynolds y Morris, 1983; Reynolds *et al.*, 1985); por otra parte, existe similitud morfológica de las JPP con los agregados linfoides que se encuentran en el intestino grueso (Aleksandersen *et al.*, 1991).

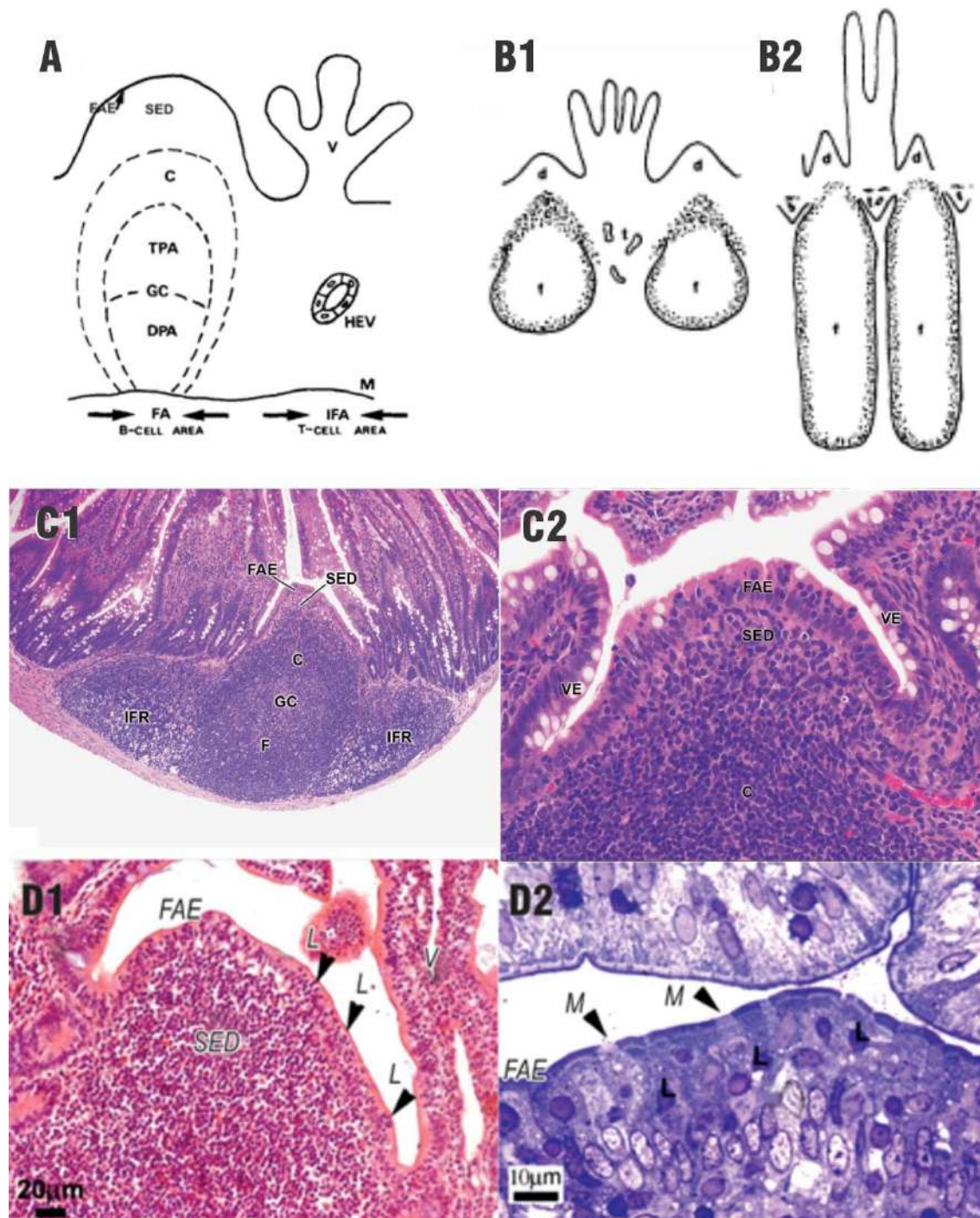


Figura 2. Estructura tisular de las placas de Peyer en mamíferos (Histología). A, esquema de la arquitectura histológica de PP de rata. B1, esquema histológico de PP de yeyuno de bovinos. B2, esquema histológico de PP del íleon de bovinos. C1, Vista panorámica de PP de íleon de rata adulta (HE 50X). C2, acercamiento de FAE y SED de placa de Peyer de rata (HE 400X). D1, FAE de PP de camellos dromedarios (HE 100X). D2, acercamiento del FAE de PP de camellos dromedarios (Azul de Toluidina 400X). V, vellosidades; VE, vellosidad; FAE, epitelio asociado a folículo; SED, domo subepitelial; d, domo; GC, centro germinal; C, corona; TPA, área tenuemente poblada; DPA, área densamente poblada; FA, área folicular; f, folículo linfóide; IFA, área interfolicular; IFR; región interfolicular; HEV, venas de endotelio alto; L, linfocitos; M, células M. Imágenes obtenidas de: Sminia *et al.*, 1983; Landsverk *et al.*, 1991; Cesta, 2006; Zidan y Pabst, 2008.

En camellos dromedarios, las PP del íleon están constituidos por grupos de folículos linfoides localizados en la submucosa y pocas veces en la lámina propia (Alluwaimi *et al.*, 1998); cada PP, esta formado por varias regiones del domo, áreas foliculares e interfoliculares (Zidan y Pabst, 2008). Mientras que, en alpacas, aunque no se describen los compartimentos clásicos de PP, se conoce que éstas, se ubican en la submucosa como agregados linfoides agrupados, asentándose algunas veces en la lámina propia (De La Vega, 1951; Montalvo, 1966; Fernández *et al.*, 1999); los agregados linfoides generalmente desplazan a las vellosidades y se presentan en todo el trayecto intestinal con interrupciones en su presentación (Fernández *et al.*, 1999).

2.3.1. Epitelio asociado a folículo

Denominado también linfoepitelio o epitelio del domo; es la capa epitelial, que forma un interfaz entre el interior de la PP y el lumen intestinal (Jung *et al.*, 2010). El FAE, se diferencia del epitelio de las vellosidades y criptas en sus componentes celulares, propiedades histoquímicas, fisicoquímicas y funcionales (Gebert *et al.*, 1996; Murphy *et al.*, 2009); las células que conforman el FAE, principalmente son: enterocitos, células M y linfocitos intraepiteliales (ILE, *Intraepithelial Lymphocytes*); las células caliciformes, generalmente están ausentes o aparecen en escasa cantidad (Banks, 1996; Neutra *et al.*, 2001).

En ratas, el FAE es ligeramente más delgado al epitelio de las vellosidades, debido a las células cúbicas o cilíndricas bajas que la conforman, entre estas, se observan escasas células caliciformes ubicadas hacia la parte basal del domo (Figura 2C2) (Onori *et al.*, 2001; Cesta, 2006); se observa además linfocitos, posiblemente asociados a las células M (Cesta, 2006). Las células M, son un fenotipo de células epiteliales exclusivas del FAE, se encuentran en los folículos linfoides solitarios y en las PP; su membrana plasmática es irregular en la parte apical y basolateral, en este último lado se observa un sub-dominio grande e invaginado que amplía su superficie formando “bolsillos” intraepiteliales, proporcionando un lugar para el acoplamiento de los linfocitos (Ermak *et al.*, 1990; Neutra *et al.*, 1996; Neutra *et al.*, 2001).

En ratones, el FAE está compuesto por enterocitos de borde estriado que alojan linfocitos, las células caliciformes están presentes, pero en escasa cantidad (Sobhon, 1971; Taylor, 2014); la proporción de ILE del FAE excede en casi el doble al de las vellosidades (Abe e Ito, 1977), y corresponden a linfocitos T CD3 $\gamma\delta$, diferentes a los linfocitos de la sangre y de otros compartimentos del GALT (Bonnevillie *et al.*, 1988; Croitoru y Ernst, 1992). Los ILE, aunque se encuentran entre las células epiteliales, no están unidas a estas por desmosomas ni otro tipo de unión celular, tampoco hay evidencia de unión a la lámina basal (Ferguson, 1977); muchos de los

ILE, migran a través de otros órganos linfoides generando linajes más competitivos; los que provienen del timo constituyen aproximadamente el 40%, (Guy-Grand *et al.*, 1993; Rocha *et al.*, 1994).

En conejos, las vellosidades presentan epitelio simple cilíndrico, en la que rara vez se observan linfocitos; mientras que, en el FAE el epitelio carece de células caliciformes y células enteroendocrinas, pero contiene células M que albergan linfocitos de morfología heterogénea (Faulk *et al.*, 1970); el glicocálix que recubre los enterocitos del FAE, son gruesos y filamentosos con respecto al de las vellosidades intestinales (Frey *et al.*, 1996).

En bovinos, ovinos, caprinos y porcinos, el FAE está infiltrado de linfocitos asociados a células M. Las células M, son morfológicamente diferentes al resto de las células del FAE, la parte apical de su citoplasma generalmente presenta micropliegues que cumplen la función de captar antígenos (Gebert *et al.*, 1996); la proporción de células M, varía en las JPP y la PP continua del ileon (Landsverk, 1987); la cantidad de células M, tiende a disminuir notoriamente hacia las porciones distales del intestino delgado (Liebler -Tenorio y Pabst, 2006). No obstante, existe serias dificultades para identificar células M por histología clásica (Landsverk, 1984; Landsverk, 1987; Corr *et al.*, 2008).

En camellos dromedarios, el FAE de las PP del íleon, presenta principalmente enterocitos, con microvellosidades típicas, y células M de apariencia variable, empero carecen de células caliciformes (Figura 2D1 y 2D2) (Zidan y Past, 2008). Por su parte, Alluwaimi *et al.*, (1999) reporta que el FAE, está desprovisto de células caliciformes, las células epiteliales que la recubre son de formas cilíndricas, de citoplasma basófilo y núcleo ovalados ubicados en la parte basal, en medio de éstas, usualmente se observan algunos linfocitos infiltrados; por otra parte, en el lumen del íleon, es posible observar algunos linfocitos, eosinófilos y macrófagos. Las células M, generalmente presentan tamaño grande; formas ovaladas, cuboidales o redondeadas; núcleo central pálido y citoplasma acidófilo.

2.3.2. Domo subepitelial

Corresponde al área ubicada por debajo del FAE y encima de los folículos linfoides, está constituida por abundantes linfocitos distribuidos de manera difusa, morfológicamente se distinguen linfocitos pequeños de escaso citoplasma y linfocitos grandes con citoplasma prominente (Wilders *et al.*, 1983; Dellman, 1994; Cesta, 2006).

En ratas, el SED presenta formas circulares y contiene células mixtas que incluyen linfocitos, macrófagos y células dendríticas (Figura 2C2) (Cesta, 2006; Jung, 2010). En ratones, sólo constituye un área pequeña de las PP, representando alrededor del 10% del volumen celular de las PP; la apariencia clara, se debe a la escasa coloración del citoplasma de las células que lo componen, principalmente linfocitos pequeños, algunos linfocitos grandes, células plasmáticas, macrófagos y células reticulares (Sobhon, 1971; Abe e Ito, 1977).

En porcinos, los domos están recubiertos por un epitelio especializado, en las JPP se ubican de manera superficial; mientras que, en la PP continua del íleon, están por debajo de las vellosidades. El tamaño de los domos de las JPP es de $18,4 \mu\text{m}^2$, cifra notoriamente mayor a los domos de la PP continua del íleon que miden $3,7 \mu\text{m}^2$. Las JPP, presentan menos cantidad de domos, en comparación a la PP continua del íleon. El área de los domos en las JPP, en promedio mide $180,5 \mu\text{m}^2$, que es significativamente mayor al área de los domos, de la PP continua del íleon que mide $55,6 \mu\text{m}^2$ (Chu y Liu, 1984).

En rumiantes domésticos, las JPP y la PP continua del íleon presentan domos de formas triangulares cuyas bases descansan sobre los folículos y la punta hacia el lumen; sin embargo, la PP continua del íleon, presenta más cantidad de domos, pero de menor tamaño, en comparación a las JPP (Figura 2B1 y 2B2) (Reynolds y Morris, 1983; Landsverk *et al.*, 1991). En ovinos, el SED de la PP continúa del íleon está compuesto principalmente por linfocitos pequeños y algunos macrófagos, pero la tasa de células mitóticas y proliferantes es baja, el tejido de soporte esta conformado por una red de fibras reticulares (Reynolds y Morris, 1983).

En camellos dromedarios, las áreas del SED sobresalen al lumen intestinal dando la apariencia de una vellosidad corta y ancha (Figura 2D1) (Zidan y Past, 2008); el tejido conjuntivo lo constituye una alta cantidad de fibras reticulares en la cual interaccionan linfocitos, macrófagos, células dendríticas, células plasmáticas, mastocitos y algunos eosinófilos (Alluwaimi *et al.*, 1998).

2.3.3. Área folicular

Está conformada por los folículos linfoides o nódulos linfoides, generalmente adoptan formas circulares u ovaladas (Ross y Pawlina, 2008). Los folículos primarios, carecen de centros germinales (GC, *germinal center*); mientras que, los folículos secundarios presentan GC; los cuales aparecen debido a la estimulación antigénica, y se consideran folículos inmunológicamente activos (Figura 2C1) (MacLennan, 1994; Allen *et al.*, 2007); el GC, muchas veces ocupa gran

parte de la superficie central del folículo, contiene linfocitos grandes y macrófagos, por lo que, da el aspecto de una masa celular menos compacta (Ross y Pawlina, 2008).

En el polo apical del GC, se observa una zona clara, llamada área ligeramente poblada (*TPA, thinly populated area*) y en el polo basal una zona oscura o área densamente poblada (*DPA, densely populated area*) (Figura 2A) (Sminia *et al.*, 1983; Heinen *et al.*, 1988); rodeando al GC se encuentra el manto o corona, es especialmente notorio a nivel de la zona clara (Heinen *et al.*, 1988). Los linajes celulares que conforman los folículos varían constantemente a medida que éstas migran, se multiplican y se diferencian como consecuencia de la respuesta inmune siendo la zona oscura la que muestra mayor actividad (Hein *et al.*, 1989; MacLennan, 1994).

En ratas, las PP forman folículos fácilmente perceptibles al microscopio de luz, usualmente el GC es de mayor tamaño al de ratones (Treuting *et al.*, 2018). En ratones, el área folicular e interfolicular son similares en volumen, representando el 90% del tejido linfoide (Abe e Ito, 1977), la delimitación del GC del resto de compartimentos es de manera sutil (Sobhon, 1971), el GC, consta de zonas claras y oscuras, la zona clara presenta un polo apical dirigido hacia la mucosa, su apariencia clara se debe a la abundancia de células reticulares y linfocitos grandes dispersos; la zona oscura presenta un polo basal hacia la capa muscular presenta una densa población de linfocitos grandes con citoplasma basófilo y macrófagos de cuerpos hormigueantes (Abe e Ito, 1977).

En bovinos y ovinos, la PP continua del íleon destacan sobre las JPP, porque contiene más cantidad de folículos linfoides; presentan formas de largos sacos ovalados, en comparación a las pequeñas formas de pera de las JPP; debido a esta condición, las áreas del SED e IFA de la PP continua son significativamente de menor tamaño (Figura 2B1 y 2B2) (Reynolds y Morris, 1983, Larsen y Landsverk, 1986; Landsverk *et al.*, 1991, Kozuka *et al.*, 2010). En general el área folicular contiene abundantes linfoblastos y cantidades moderadas de pequeños linfocitos ubicados en la corona (Landsverk, 1984). También es frecuente observar células mitóticas con varios nucléolos y células blásticas de citoplasma grande y basófilo; los folículos se demarcan por las partes laterales por una capsula de tejido conectivo del que se proyecta algunas fibras reticulares al interior (Reynolds y Morris, 1983).

En camellos dromedarios, las PP del íleon presentan grupos de folículos linfoides con GC, las células que las conforman son linfocitos y células dendríticas foliculares, sostenidos por una red de fibras reticulares (Zidan y Pabst, 2008); el promedio del diámetro de los folículos

oscila entre 500 y 900 μm y en cantidad se registran entre 25 a 37 en las PP de la porción proximal del íleon y 31 a 38 en las PP de la porción distal (Alluwaimi *et al.*, 1998).

En alpacas adultas, los folículos linfoides de las PP se ubican en la submucosa, por debajo de la muscular de la mucosa (De La Vega, 1951; Fernández *et al.*, 1999), presentan GC, que se extiende en el conjuntivo de manera interrumpida, está irrigada por vénulas de endotelio alto similares a las observadas en los linfonódulos, estas se extienden desde la submucosa y penetran periféricamente la estructura folicular (Fernández *et al.*, 1999); en algunos animales se observan estructuras esféricas similares a folículos linfoides, en su interior presentan células de gran tamaño, de forma estrellada y núcleo pálido, sostenidos por una trama de fibras reticulares (Fernández, 1997).

2.3.4. Área interfolicular

Llamada también área parafolicular, es el área que rodea a los folículos por las partes laterales, por la parte superior se relacionan con las vellosidades y criptas intestinales, (Figura 2C1) (Sminia *et al.*, 1983; Ross y Pawlina, 2008); está conformada por linfocitos distribuidos en forma difusa, y soportados por tejido conjuntivo rico en venas de endotelio alto (*HEV*, *high endothelial venules*), además de una compleja red de senos linfáticos (Banks, 1996).

En ratas y ratones, adopta formas triangulares; contiene principalmente linfocitos pequeños, así como linfocitos grandes, células plasmáticas y macrófagos; por encima del IFA se observa vellosidades y criptas (Abe e Ito, 1977; Cesta, 2006). Las HEV, son vénulas poscapilares en cuya superficie se adhieren linfocitos (Cesta, 2006), reciben capilares del área folicular y se unen a las venas por debajo de la muscular de la mucosa o por encima de la capa muscular (Sobhon, 1971; Abe e Ito, 1977); junto a la red de vénulas es posible observar vasos linfáticos, a menudo repletos de pequeños linfocitos adheridos al endotelio (Sobhon, 1971).

En ovinos, el IFA delimita por la parte superior con la muscular de la mucosa, por las partes laterales con las cápsulas foliculares y por la parte inferior con la capa muscular externa; en la PP continua del íleon, cubre un área notoriamente menor en comparación a las JPP (Reynolds y Morris, 1983). En bovinos, el IFA se diferencia nítidamente de los folículos y son de pequeñas formas triangulares, ubicadas por debajo de la muscular de la mucosa; está compuesta de una moderada cantidad de linfocitos, además de macrófagos y eosinófilos, y raramente se observan HEV (Landsverk, 1984).

2.4. Características ultraestructurales

El SEM, proporciona una resolución de imagen entre 1 y 10 nm, superior a la del microscopio óptico, brindando profundidad de enfoque relativamente grande; por tanto, el análisis de muestras biológicas resulta más cercano a su estado natural (Vázquez y Echevarría, 2000); además, permite examinar áreas cuadradas o rectangulares de muestras gruesas; la entrada de electrones primarios, suministra energía a los electrones atómicos de la muestra sólida para liberar electrones secundarios y de esta manera se forman imágenes tridimensionales (Egerton, 2016).

En ratas, a baja magnificación, la examinación panorámica de la superficie de la mucosa de las PP, presenta vellosidades homogéneas interrumpidas por las áreas de los domos; las vellosidades que rodean los domos, son largas, compactas y densas, que oscurecen las zonas periféricas de los domos (Figura 3A); a mayor aumento, las microvellosidades de las células del epitelio del FAE son visibles (Onori *et al.*, 2001). Los domos de las PP de ratones y jerbos de Mongolia, son de formas hemisféricas y miden entre 200 a 600 μm de diámetro, en ambas especies están rodeados de vellosidades intestinales (Figura 3B) (Komazawa *et al.*, 1991).

En humanos, las PP presentan abultamientos redondeados, que corresponden a las áreas de los domos, estas se encuentran casi libres de vellosidades y criptas de Lieberkhun; las pocas vellosidades aquí observadas, son distorsionadas, aplanadas o parecidas a hojas, a diferencia de las vellosidades largas y digitiformes que rodean a los domos (Figura 3E), se observa también áreas planas que posiblemente correspondan a domos de PP involutivas (Owen y Jones, 1974). Por su parte, Kanou, (1984) describe que las PP del íleon, están recubiertas por abundantes domos, en forma de protuberancias hemisféricas, que miden entre 300 a 900 μm de diámetro (Figura 3D).

A mayor magnificación, las células del FAE muestran pluralidad en relación al epitelio de las vellosidades adyacentes; observándose: enterocitos, con microvellosidades; escasas células caliciformes y células atípicas, que presentan pliegues irregulares en lugar de microvellosidades, estos pliegues sobresalen en 0.1 a 0.3 μm la superficie de la membrana (Owen y Jones, 1974); los pliegues irregulares, pertenecen a las células M y aparecen como depresiones a manera de fosas en la superficie del FAE (Figura 4A1 y 4A2), por cada célula M, se observa aproximadamente 36 enterocitos (Kanou, 1984).

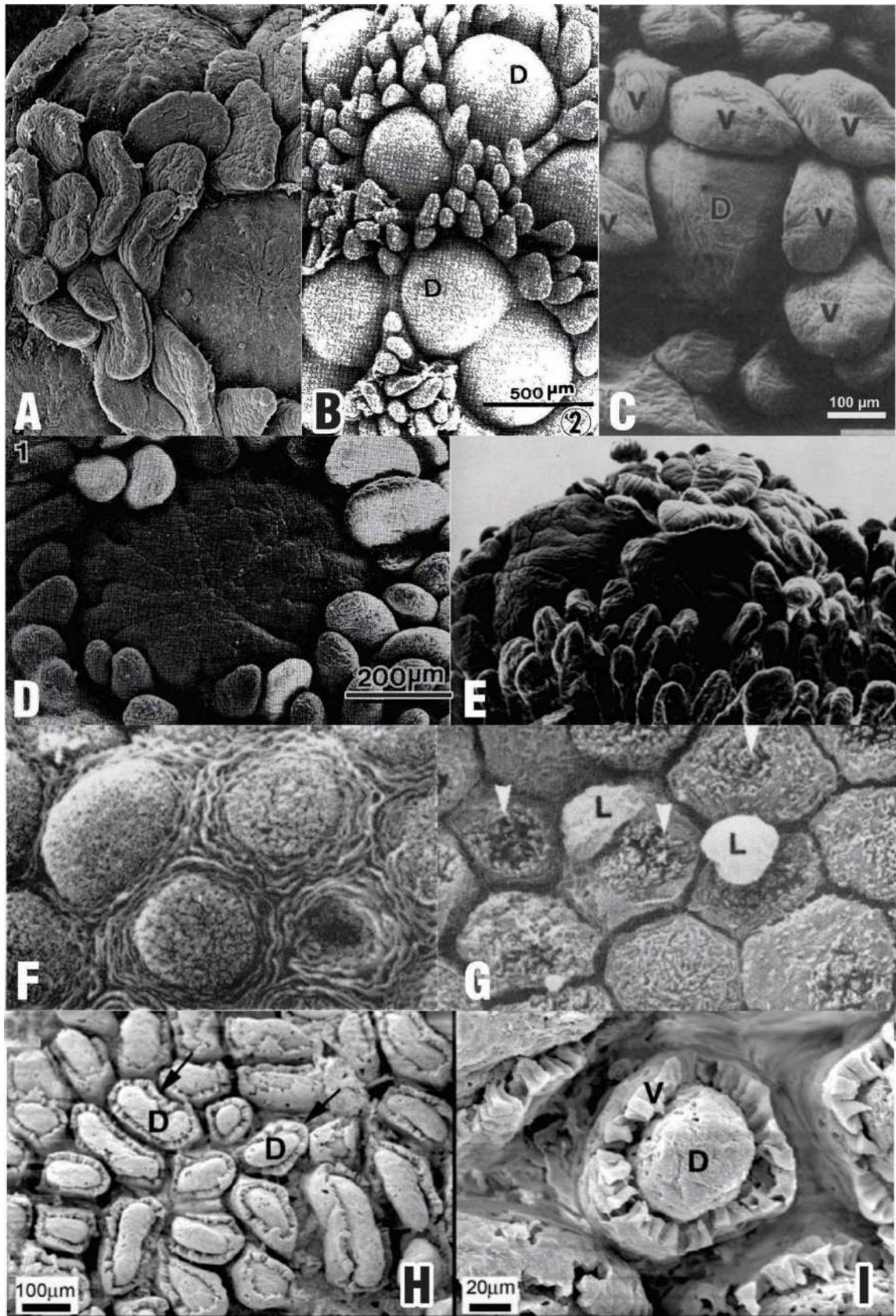


Figura 3. Tipos de domos en las placas de Peyer de mamíferos (SEM). A, rata. B, jerbo. C, macaco. D, E, humano. F, G, bovino. H, I, dromedario. D, domo; V, vellosidades intestinales. Imágenes obtenidas de: Onori *et al.*, 2001; Komazawa *et al.*, 1991; Kuhn y Kaup, 1996; Kanou, 1984; Owen y Jones, 1974; Landsverk, 1981; Zidan y Pabst, 2008.

En macacos Rhesus, las PP del íleon están cubiertas por domos que sobresalen al lumen intestinal, pero sin alcanzar el nivel de las vellosidades intestinales, los domos, son de forma hemisférica y se distribuyen entre las vellosidades (Figura. 3C). El FAE, está compuesto en mayor proporción por enterocitos con microvellosidades; en medio de estas intercalan algunas células caliciformes, y células M. Las células M son reconocidas por generar discontinuidad de las microvellosidades de los enterocitos, además de estar asociados con LIE (Figura 4D) (Kuhn y Kaup, 1996).

En terneros gnotobioticos, los domos que recubren las JPP discretas, así como la PP continua del íleon, presentan formas de hojas aplanadas en comparación de las vellosidades digitiformes de otras áreas del intestino; los domos de PP se encuentran encubiertos por las vellosidades en especial las de las JPP (Parsons *et al.*, 1991). En bovinos adultos, entre las vellosidades ordinarias que recubren las PP, los domos se proyectan a manera de pseudovellosidades (Figura 3F); éstos contienen células con microvellosidades poco desarrolladas (Figura 3G) y una población de células particulares que contienen pliegues superficiales (Landsverk, 1981).

El FAE de las JPP de terneros, carecen de células caliciformes; las células M, se distribuyen aleatoriamente entre los enterocitos, estas presentan micropliegues y escasas e irregulares microvellosidades (Figura 4B1); aunque algunas células M, están por debajo del nivel de los enterocitos adyacentes, aún así son visibles con relativa facilidad al examen de barrido, otras, están completamente ocultas y solo son identificables por las típicas protuberancias citoplasmáticas, que aparecen ligeramente en la superficie del domo (Figura 4B2). Los domos de la PP continua del íleon, carecen de células caliciformes y enterocitos de función absortiva; las células del epitelio son redondas y generan grietas al unirse entre ellas; la superficie del lumen, presenta células M, reconocidas por sus micropliegues y ocasionalmente microvellosidades cortas ubicadas centralmente (Parsons *et al.*, 1991).

En bovinos adultos, el FAE que cubre los folículos involutivos contiene células M, distribuidas al azar entre enterocitos absortivos, las cuales presentan una microvellosidad central y pliegues concéntricos periféricos en los puntos de unión entre ellas. Por microscopía electrónica de transmisión se sabe que las células M son más numerosas de lo que aparecen por SEM (Parsons *et al.*, 1991).

En cabras, la superficie de las PP del íleon está tapizadas por largas y delgadas vellosidades digitiformes, así como de criptas intestinales, aunque los domos de PP son

apreciables, en muchos casos se encuentran encubiertos bajo las vellosidades. El FAE, carece de células caliciformes; el epitelio que la recubre, es de tipo simple cilíndrico con microvellosidades hacia la parte del lumen, estas células corresponden a los enterocitos; por otra parte, las células M, intercalan con los enterocitos, se caracterizan por presentar micropliegues y microvellosidades escasas e irregulares; la visibilidad de las células M, depende del tamaño de los enterocitos circundantes (Gautam *et al.*, 2017).

En camellos dromedarios, las PP del íleon presentan varias regiones de domos, caracterizadas por presentar mayormente formas elongadas y en algunos casos formas hemisféricas, las vellosidades intestinales circundan a cada domo (Figura 3H y 3I). Las células M, son apreciables en el FAE, aunque con dificultad (Zidan y Pabst, 2008).

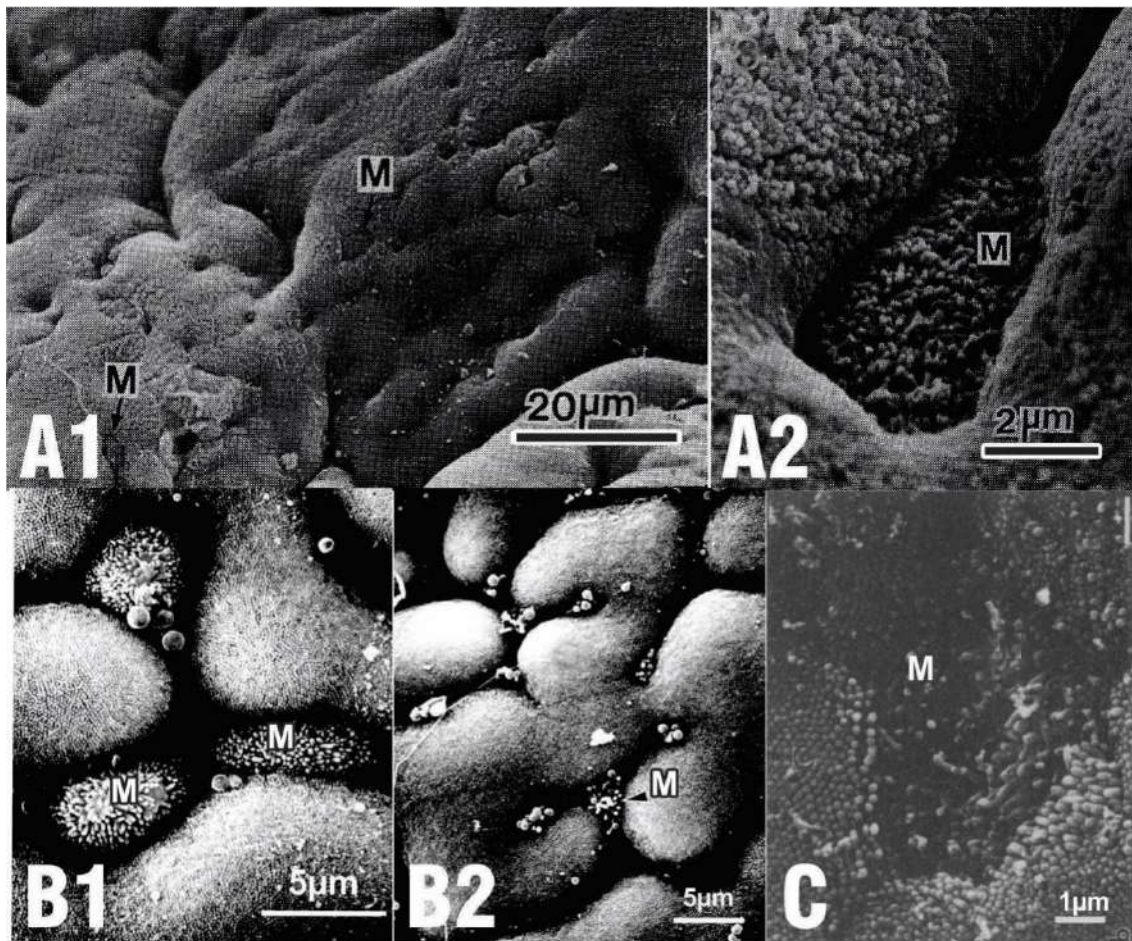


Figura 4. Epitelio asociado a folículo en las placas de Peyer de mamíferos (SEM). A1, A2, humano. B, bovino. C, macaco. M, célula M. Imágenes obtenidas de: Kanou, 1984; Parsons *et al.*, 1991; Kuhn y Kaup, 1996.

2.5. Ontogenia de las placas de Peyer

2.5.1. Desarrollo prenatal

El desarrollo prenatal, es el período de vida que abarca desde la fertilización del óvulo maduro hasta el nacimiento; comprende una serie de cambios morfológicos externos e internos. El día del apareamiento es considerado como el inicio de la gestación, y el desarrollo embrionario incluyen las etapas de: formación de esbozos primitivos, neurula, embrión de cola, embrión tardío y la etapa fetal (Evans y Sack, 1973).

En mamíferos, el desarrollo embrionario presenta particularidades propias de la especie; la ontogenia gestacional sigue una secuencia de desarrollo en dirección rostro-caudal; por lo que, durante los estadios iniciales de la organogénesis, la mayor parte de las estructuras presentes en el embrión están relacionadas con la cabeza, cuello y torax (Noden y Lahunta, 1990). Para fines de comparación entre especies, las curvas de crecimiento y valores cronológicos se basan en las características externas y medidas biométricas observadas (Cuadro 1).

Cuadro 1: Etapas de gestación en algunas especies de mamíferos.

Especie	Periodo de gestación						Total tiempo de gestación		
	E	F1		F2		F3		días	Sem.
	días	días	Sem.	días	Sem.	días	Sem.		
Humanos	0	56.0	8.0	129	18.4	208	29.7	280	40
Ratas	0	16.0	2.3	18.7	2.7	21.3	3.1	24	3.4
Ratones	0	14.5	2.1	16.0	2.3	17.5	2.5	19	2.7
Conejos	0	14.0	2.0	19.7	2.8	25.3	3.6	31	4.4
Porcinos	0	29.0	4.1	57.3	8.2	85.6	12.2	114	16.3
Bovinos	0	40.0	5.7	121.0	17.3	202.0	28.8	283	40.4
Ovinos	0	32.0	4.6	72.0	10.3	112.0	16.0	152	21.7
Camellos	0	90.0	12.9	190.0	27.1	290.0	41.4	390	55.7
Alpacas	0	60.0	10.0	168.0	24.0	238.0	34.0	328	46.8

Los valores numéricos indican el inicio de la etapa gestacional expresado en días y semanas (Sem). E, etapa embrionaria. F1, F2, F3, etapa fetal del primer, segundo y tercer tercio de gestación respectivamente. Datos calculados a partir de: San-Martin *et al.*, 1968; Evans y Sack, 1973; Elwishy *et al.*, 1981; Bravo y Varela, 1993; O'Rahilly R, Müller F. 2000; O'Rahilly y Muller, 2010; Jukic *et al.*, 2013.

En humanos, la gestación dura 40 semanas (Cuadro 1), empero, la ontogenia de las PP está relacionado al desarrollo intestinal; la diferenciación macroscópica es posible a partir de la 20.^a a la 24.^a semana de gestación; pero histológicamente es posible reconocerlas a partir de la 9.^a semana de gestación. Usualmente las PP del íleon son de mayor tamaño y están en mayor cantidad que en el yeyuno; de otra parte, en el duodeno, solo es posible observarlas en algunos fetos (Cornes, 1965).

Los linfocitos aparecen en la submucosa intestinal a partir de la 14.^a semana de gestación, y son diferenciables en linfocitos B, linfocitos T y otras células no linfoides como macrófagos y células dendríticas (Spencer *et al.*, 1986). A la 16.^a semana, los linfocitos incrementan en tamaño y cantidad; y a la 19.^a semana el área folicular y el IFA se han formado; por su parte, el FAE a esta edad se compone de epitelio simple cúbico con presencia de células M. En suma, al final del 2.^{do} tercio de gestación, el epitelio intestinal de los fetos es comparable a animales post nacimiento (Moxey y Trier, 1979; Mac-Donals, 1993).

En ratas, el tiempo de gestación dura 3.4 semanas (Cuadro 1), pero los cambios significativos en la formación de las PP, ocurren a partir del 19.^o al 20.^o día de gestación (2.^{do} tercio de gestación), con la aparición de vellosidades discontinuas en varias regiones del intestino delgado; el epitelio de la mucosa, presenta células epiteliales cúbicas que se vuelven cilíndricas en fetos próximos a nacer; la submucosa destaca por ser un área engrosada, contiene principalmente células mesénquimatosas y escasas células de morfología linfoide. Sin embargo, los primeros primordios de PP aparecen en fetos próximos a nacer (Heel *et al.*, 1997).

En ratones, el tiempo de gestación dura 2.7 semanas (Cuadro 1). La ontogenia de las PP requiere de interacciones complejas entre el epitelio intestinal, el tejido mesénquimatoso y las células progenitoras de origen hematopoyético que provienen de la médula ósea; las primeras células linfoides aparecen aproximadamente al 15.^o día de gestación (1.^{er} tercio de gestación). A esta edad, el endodermo que recubre el intestino se ha transformado en una capa epitelial simple, los vasos linfáticos han alcanzado la mucosa intestinal y las células mesenquimales comienzan a formar grupos (Finke y Kraehenbuhl, 2001).

La formación de las PP, inicia en las regiones tisulares que contienen marcadores a IL-7Ra1, células linfoides y células no linfoides que expresan moléculas de adhesión de células vasculares (VCAM)-1 y moléculas de adhesión intercelular (ICAM) -1 (Hashi *et al.*, 2001; Honda *et al.*, 2001). La cantidad de PP que aparecen en la etapa prenatal, varía entre 5 a 12 PP, éstas se

ubican en el borde antimesenterico del intestino, el desarrollo inicia en el duodeno e íleon proximal, para luego continuar en la porción distal y media del intestino (Adachi *et al.*, 1997).

En porcinos, la gestación dura 16 semanas (Cuadro 1); y los cambios en la ontogenia del intestino delgado, ocurren de la porción proximal a la distal, y comienza como un tubo uniforme y sencillo revestido por epitelio estratificado, para transformarse en un órgano membranoso con vellosidades revestidas por epitelio simple cilíndrico. La diferenciación de las células epiteliales, sucede a partir del 40.º día de gestación (6.^a semana, 1.^{er} tercio de gestación), y continúa con la formación de microvellosidades y componentes del complejo endocítico apical; empero, al 110.º día (16.^a semana, 3.^{er} tercio de gestación), la mucosa presenta la morfología típica de animales postnacimiento (Dekaney *et al.*, 1997).

La infiltración de linfocitos en la submucosa, se aprecia a partir del 50.º día de gestación (7.^a semana, 1.^{er} tercio de gestación), pero los folículos linfoides aparecen entre el 90.º a 100.º día (13.^a a 14.^a semana, 3.^{er} tercio de gestación) (Kruml *et al.*, 1970; Chapman *et al.*, 1974), el mayor crecimiento de estos se da en los últimos 10 días previos al nacimiento; a partir del 95.º día (14.^a semana, 3.^{er} tercio gestación) hasta el momento del nacimiento, el intestino en promedio registra la cantidad de 18 PP (Chapman *et al.*, 1974).

Por su parte, Furukawa *et al.*, (2020) reporta que, al 76.º día de gestación (11.^a semana, 2.^{do} tercio gestación), la submucosa presenta células T CD3⁺, los agregados linfoides junto a las células B CD20⁺, aparecen al 91.º día (13.^a semana, 3.^{er} tercio de gestación), lo que indica que ambos linajes celulares migran hacia los esbozos de la PP continua del íleon en este tiempo. A esta misma edad, la región folicular e interfolicular, se encuentran pobremente delineadas; sin embargo, al 110.º día (16.^a semana, 3.^{er} tercio de gestación), juntamente con la mayor infiltración de células linfoides, completan la organización de los compartimentos de las PP, siendo comparables a especímenes post nacimiento.

En bovinos, la gestación dura 40 semanas (Cuadro 1). El desarrollo de las PP en la etapa fetal, se aprecia al 5.º mes de gestación (21.^a semana, 2.^{do} tercio de gestación) para las JPP; pero la PP continua del íleon, aparece entre el 6.º y 7.º mes (26.^a y 30.^a semana, 3.^{er} tercio de gestación). La cantidad de JPP, incrementa durante la etapa fetal, alcanzando a 76 JPP al final de gestación (Doughri *et al.*, 1972); aunque, Carlens, (1928) solo reporta entre 24 a 49 JPP en la etapa fetal, estas permanecen durante la edad adulta; por su parte, la PP continua del íleon, si bien crece notablemente al final de la gestación, alcanzando el tamaño de 3 m de largo, desaparece completamente a la edad adulta (Carlens, 1928).

Por otra parte, Beyaz y Aşti, (2004) reportaron que el primer primordio de la PP continua del íleon, aparece al 164.º día de gestación (23.^a semana, 2.^{do} tercio de gestación); los agregados de folículos linfoides, se aprecian al 227.º día (32.^a semana, 3.^{er} tercio de gestación), y el desarrollo completo de las PP sucede a los 271.º día (39.^a semana, 3.^{er} tercio de gestación). Paralelamente, el FAE, presenta células epiteliales cúbicas al 164.º día de gestación (23.^a semana), las que cambian a células cilíndricas al 271.º día (39.^a semana). Los linfocitos de epitelio, se reconocen a partir del 227.º día (32.^a semana), muchas de estas corresponden a ILE, a esta edad, también se observan micropliegues en la superficie del FAE, proporcionando un aspecto heterogéneo a su superficie (Beyaz y Aşti, 2004).

En ovinos, la gestación dura 22 semanas (Cuadro 1). La ontogenia de las JPP discretas y la PP continua del íleon, presentan importantes diferencias, debido principalmente a cambios en las poblaciones linfoides (Yasuda *et al.*, 2004; Yasuda *et al.*, 2006); el proceso ontogénico de las PP del intestino delgado, se divide en dos etapas como son: la formación de primordios, que abarca del 60.º al 110.º día de gestación (9.^a y 16.^a semana, entre 1.^{er} al 3.^{er} tercio de gestación) y la etapa de maduración, que ocurre entre el 120.º al 150.º día (17.^a al 21.^a semana, 3.^{er} tercio de gestación), siendo en especial evidente durante los últimos días de gestación (Reynolds y Morris, 1983).

Al 60.º día de gestación (9.^a semana, 1.^{er} tercio de gestación), las células de tipo reticular se agregan en la mucosa y submucosa; entre el 68.º a 70.º día (10.^a semana, 1.^{er} tercio de gestación), aparecen las primeras células linfoides, junto a células grandes de citoplasma basófilo, en medio de los agregados celulares; los infiltrados linfoides, se vuelven más densos conforme avanza la edad; al 75.º día (11.^a semana, 2.^{do} tercio de gestación), aparecen los esbozos de folículos linfoides, conformados por células foliculares de tipo epitelial en 50%, y el porcentaje restante lo conforman: linfocitos pequeños, linfocitos grandes y células proliferantes; al 100.º día (14.^a semana, 2.^{do} tercio de gestación), los folículos son prominentes con las áreas del SED e IFA completamente formadas en las JPP; mientras que, en la PP continua del íleon, los folículos aparecen al 110.º día (16.^a semana, 3.^{er} tercio de gestación), tardan aproximadamente 5 semanas más que en las JPP; sin embargo, su desarrollo es más acelerado durante las últimas 6 semanas de gestación (Reynolds y Morris, 1983).

Por su parte, Aleksandersen *et al.*, (1991) reporta que, a partir del 3.^{er} mes de gestación (13.^a semana, 2.^{do} tercio de gestación), el intestino presenta PP; no obstante, 4 semanas antes del nacimiento se observa la máxima cantidad de PP, llegando a representar el 13-18% de su longitud (Reynolds *et al.*, 1985). Por otra parte, la estimulación antigénica del intestino durante las últimas

semanas de la etapa prenatal, aunque no induce el crecimiento prematuro de los folículos linfoides, si estimula la aparición del GC y la aparición de células plasmáticas en la lámina propia (Reynolds y Morris, 1984).

En camellos dromedarios, la gestación dura 56 semanas (Cuadro 1). En este tiempo la ontogenia del intestino es progresiva y describe una curva geométrica, con diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre cada trimestre de gestación. La diferenciación histológica entre duodeno, yeyuno e íleon ocurre entre el 2.^{do} y 3.^{er} tercio de gestación (*entre 27.^a y la 41.^a semana de gestación*); el yeyuno representa la porción mas grande, seguida del íleon y duodeno; en promedio la longitud del íleon mide 59.33 ± 2.67 y 75.00 ± 3.00 cm en el 2.^{do} y 3.^{er} tercio de gestación respectivamente (Bello *et al.*, 2012; Bello *et al.*, 2017).

En alpacas, el tiempo de gestación dura 48 semanas (Cuadro 1). Durante los primeros 30 días (*4.^a semana, 1.^{er} tercio de gestación*), el útero grávido no presenta cambios significativos; al 60.^o día (*9.^a semana, 1.^{er} tercio de gestación*), los cambios son leves a nivel de las paredes uterinas; los fetos se alojan en la cavidad pélvica hasta el 90.^o día (*13.^a semana, 1.^{er} tercio de gestación*), luego desciende a la cavidad abdominal, siendo difícil detectarlos por palpación rectal, sino hasta 4 semanas antes del nacimiento, cuando la cabeza y las extremidades anteriores son detectables en el canal pélvico (Bravo y Valera, 1993).

A partir del 7.^o mes de gestación (*30.^a semana, 2.^{do} tercio de gestación*) el desarrollo fetal es acelerado mostrando una curva de función cuadrática (García, 2005). El promedio del peso en los fetos incrementa lentamente durante los primeros 6 meses de gestación (*26.^a semana, 2.^{do} tercio de gestación*), luego incrementa rápidamente de 1.2 kg a los 7 meses (*30.^a semana, 2.^{do} tercio de gestación*) a 8.8 kg al momento del nacimiento; así el 65% del incremento del peso sucede en los últimos 3.5 meses de gestación (*a partir de la 33.^a semana de gestación*) (Bravo y Valera, 1993)

De acuerdo a Vásquez, (2021), el intestino es apreciable durante las primeras semanas de gestación; pero el íleon, se diferencia de los demás segmentos, a partir del 80.^o día (*11.^a semana, 1.^{er} tercio de gestación*), a esta edad, la mucosa presenta algunas leves evaginaciones, recubiertas de epitelio cilíndrico estratificado; las células caliciformes, se observan en escasa cantidad al 103.^a día (*15.^a semana, 1.^{er} tercio de gestación*); las evaginaciones se vuelven más pronunciadas y las células caliciformes más evidentes, entre el 117.^o y 119.^o día (*17.^a semana, 1.^{er} tercio de gestación*). Entre el 124.^o al 129.^o día (*18.^a semana, 1.^{er} tercio de gestación*), las evaginaciones adoptan formas digitiformes y están recubiertas por epitelio simple cilíndrico; pero, los pliegues

intestinales, aparecen entre el 207.º al 216.º día (30.^a a 31.^a semana, 2.^{do} tercio de gestación) y las criptas intestinales se reconocen recién al 221.º día (32.^a semana, 2.^{do} tercio de gestación). No obstante, a partir del 293.º día (45.^a semana, 3.^{er} tercio de gestación), las vellosidades y criptas son similares a especímenes de etapa postnatal.

En embriones y fetos de alpacas, hasta la 15.^a semana (1.^{er} tercio de gestación), no se observa vestigio de tejido linfoide en el intestino (Castro *et al.*, 2018); sin embargo, Vásquez, (2021) reportó agregados linfoides en la lámina propia y linfocitos intraepiteliales a partir del 230.º día de gestación (33.^a semana, 2.^{do} tercio de gestación), sobre los agregados linfoides, el epitelio se encuentra más aplanado; no obstante, los típicos domos relacionados a las PP, se aprecian a partir del 293.º día de gestación (45.^a semana, 3.^{er} tercio de gestación).

2.5.2. Desarrollo postnatal

En humanos, durante las primeras etapas de la infancia, se registran en promedio 59 PP; los individuos jóvenes reportan 239 y los adultos hasta 40 PP. Con respecto al tamaño y cantidad las PP incrementan de manera considerable desde su aparición en la etapa fetal hasta los 20 años; luego éstas regresionan rápidamente, llegando muchas veces a desaparecer en individuos de 75 a 95 años de edad. (Cornes, 1965; Heel *et al.*, 1997). Por su parte, Van Kruiningen *et al.*, (2002) reporta que el promedio de PP en el intestino delgado es de 29.4 ± 5.4 en jóvenes y de 19.3 ± 3.1 en individuos de mayor edad; no obstante, entre los 21 a 30 años se reporta 47.4 ± 1.0 PP, que representa el mayor promedio respecto a los otros grupos etarios.

El GC aparece en los folículos linfoides, poco después del nacimiento y éstas desarrollan rápidamente a la estimulación antigénica, aumentando el área de la lámina propia y la submucosa (Bridges *et al.*, 1959); la estimulación antigénica propio del lumen intestinal es responsable de la rápida maduración de las PP (Cornes, 1965).

En ratas recién nacidas, las PP son muy rudimentarias, en esencia constan de linfocitos pequeños y algunos linfocitos medianos en la lámina propia del intestino delgado. Al 12.º día de nacimiento, con el considerable incremento de linfocitos, aparecen el FA y el IFA, este último es rico en HEV; a esta edad, el epitelio que recubre el tejido linfoide, adquiere características morfológicas de linfoepitelio, debido a la presencia de linfocitos. A partir del 14.º día, en los folículos linfoides se da inicio a la formación de la corona folicular, definiendo la disposición del área de los domos subepiteliales; no obstante, los GC aparecen en folículos linfoides, alrededor del 18.º día, completándose al 28.º día de vida (Sminia *et al.*, 1983; Van Rees *et al.*, 1990).

En ratones jóvenes, las PP son abundantes y fácilmente detectables (Abe e Ito, 1977; Scudamore, 2014). Al 3.^{er} día post nacimiento, muchos linfocitos aparecen agrupados en la submucosa; al 7.^o día, se observan folículos primarios bien definidos. A la 4.^a semana, comienzan a aparecer algunos GC; pero a partir de la 5.^a semana, éstos se encuentran presentes en todos los especímenes (Ferguson, 1977; Haley, 2003). La exposición a antígenos a través del lumen intestinal, acelera la aparición de los compartimentos de PP, en especial de los GC, cuyo origen y formación es simultánea con los anticuerpos de la sangre (Pollard y Sharon, 1970).

En porcinos, el yeyuno e íleon registran en conjunto la longitud promedio de 880.3 ± 42.1 cm, al 2.^o mes de nacidos y 911.4 ± 41.6 cm al 12.^o mes, sin diferencia significativa en ambos grupos etarios; la proporción total de PP, alcanza el promedio de $18.4 \pm 0.7\%$, al 2.^o mes y $18.7 \pm 0.7\%$, al 12.^o mes; el patrón de ubicación, cantidad, tamaño y equidistancia se mantiene constante entre las JPP y la PP continua del íleon en ambos grupos etarios (Rothkötter y Pabst, 1989). Los compartimentos de las JPP, es similar a los demás mamíferos, presentan folículos linfoides de forma redonda, el IFA y el SED presentan las formas clásicas; mientras que, la PP continua del íleon, en los primeros 5 meses de vida, presenta folículos linfoides de formas ovaladas, dando lugar a áreas interfoliculares más reducidas; empero, al 12.^o mes, los patrones histológicos de la PP continua del íleon y las JPP se asemejan (Rothkötter y Pabst, 1989; Liebler-Tenorio y Pabst, 2006).

El desarrollo ontogénico de las JPP y la PP continua del íleon, presentan patrones similares entre sí. Los folículos linfoides, el IFA y el SED son identificables de manera nítida al nacimiento, con el incremento de la cantidad de linfocitos, los folículos linfoides tienden a ubicarse hacia la submucosa. Durante los primeros 29 días de vida, el incremento en el diámetro de folículos linfoides es significativo, las JPP incrementan en 268% y la PP continua del íleon lo hace en 283% (Pabst *et al.*, 1988). Por otra parte, Makala *et al.*, (2000) reportó que, al nacimiento las JPP presentan linfocitos T CD2+, CD3+, macrófagos y células dendríticas; al 4.^o día de vida, las células se localizan en los folículos linfoides, el IFA y el SED; las áreas de los folículos se forman al 6.^o día y los GC aparecen al 14.^o día; con todo, la madurez se completa a partir del 21.^o día de vida.

En cerdos recién nacidos, el promedio de PP discretas registrado es de 15 unidades, éstas se ubican en el yeyuno y las primeras porciones del íleon. A mayor edad, las PP incrementan gradualmente en cantidad, como también en longitud; en las JPP discretas, se debe al aumento del tamaño de los folículos linfoides y en la PP continua del íleon, se debe al incremento en la cantidad de folículos. A pesar de un aparente desarrollo de la PP continua del íleon, esta

involuciona posteriormente, dejando sólo rastros folículos linfoides pequeños y dispersos (Pabst *et al.*, 1988).

La PP continua del íleon, experimenta el máximo desarrollo en la etapa posnatal, la demarcación de las zonas centrales, marginales y subepiteliales concluyen en esta etapa (Furukawa *et al.*, 2020). Sin embargo, gran parte del desarrollo posnatal está influenciado por la estimulación antigénica del lumen intestinal (Pabst *et al.*, 1988; Barman *et al.*, 1997), por lo que, la diferenciación morfológica completa, ocurre cuando hay procesamiento eficiente de antígenos (Makala *et al.*, 2000).

En terneros, a los 3 meses de nacidos, la PP continua del íleon mide hasta 3 m de longitud y representa la tercera parte del GALT de todo el intestino delgado (Doughri *et al.*, 1972). En comparación a las JPP, esta, conforme avanza la edad sufre involución, es reemplazada por algunos folículos linfoides aislados a partir del 2.º año de vida (Carlens, 1928), y desaparece por completo a la edad adulta (Doughri *et al.*, 1972).

En ovinos, después del nacimiento no se evidencian cambios histológicos cualitativos entre las JPP y la PP continua del íleon, aunque el incremento del volumen celular con respecto a la edad fetal es significativo en ambos tipos de PP. Al 2.º mes de vida, la cantidad de linfocitos que se encuentran en el FAE es de similar proporción a las células epiteliales (Reynolds y Morris, 1983).

Las JPP macroscópicamente son de estructuras aisladas y formas discretas, que permanecen por el resto de la vida del animal (Reynolds y Kirk, 1989). Histologicamente, se caracterizan por presentar folículos grandes y compartimentos que alcanzan gran desarrollo en la etapa adulta (Reynolds y Morris, 1983). Existe gran similitud en el desarrollo de los agregados linfoides del intestino grueso y las JPP, así al nacimiento el tejido linfoide presenta amplios folículos linfoides y domos que sobresalen al lumen; mientras que, el FAE carece de células caliciformes, está conformado por una capa de enterocitos infiltrado de linfocitos. En animales de 6 semanas de edad, así como adultos, la corona folicular es marcadamente ancha y está poblada densamente por linfocitos pequeños; por su parte, el IFA abarca un área amplia y está poblado por numerosos linfocitos pequeños e irrigado por vénulas poscapilares y grandes vasos linfáticos (Aleksandersen *et al.*, 1991).

La PP continua del íleon, alcanza su mayor desarrollo y tamaño, en corderos de 2 a 3 meses de nacidos, llegando a medir hasta 3 m de largo por 3.5 cm de ancho (Carlens, 1928). Por

su parte, Lie *et al.*, (2005) menciona que al 7.º mes son muy prominentes, pero que, a partir del 9.º mes, pierde parte de la forma típica; y posteriormente resulta difícil identificarlo macroscópicamente; así al 18.º mes, este tipo de PP involucionan por completo (Reynolds y Morris, 1983; Reynolds, 1987).

Los eventos morfológicos que acompañan la involución de la PP continua del íleon, inician a la 12.^a semana de vida, con la disminución de la población linfoide, los folículos se retraen hacia la muscular de la mucosa, los macrófagos se hacen más visibles en la parte central de los folículos y los linfocitos desaparecen para ser reemplazados por tejido conectivo. Entre el 12.º al 18.º mes, la mayoría de los folículos son reemplazados por tejido fibroso, quedando solo algunos folículos arrugados; los restos del IFA forman bandas estrechas con pequeños linfocitos y células plasmáticas; las regiones del SED aún permanecen y contienen una población celular heterogénea compuesta principalmente de células plasmáticas (Reynolds y Morris, 1983).

Los folículos linfoides de la PP continua del íleon, durante la involución experimentan cambios morfológicos importantes; así de presentar formas de grandes sacos alargados al momento del nacimiento, cambian a pequeñas formas esféricas a partir del 11.º mes de nacimiento. En cuanto a la cantidad de folículos linfoides, se observa marcada disminución a partir del 13.º mes. Por otra parte, Lie *et al.*, (2005) reportó similares cambios morfológicos, aunque en diferentes rangos de edades; en corderos mayores a 1.5 meses y animales adultos, los folículos linfoides presentan formas de peras, estos folículos atípicos a menudo están rodeados por grandes áreas interfoliculares. La parte central de los folículos con frecuencia contienen depósitos extracelulares de material hialino que reemplaza a las células linfoides, reaccionan de manera positiva a la coloración Van Giesson, pero son débilmente PAS.

La involución es el proceso por el cual un órgano retorna a su tamaño anterior; a nivel celular, se observa proteólisis, regresión, apoptosis celular y fibrosis; la reorganización del tejido estromal conduce a la reducción del tamaño del órgano. Mientras que, la atrofia es el desgaste total o parcial de un órgano, debido a la pérdida de masa celular; las células atroficas muestran disminución de la función, pero no están muertas (Kerr *et al.*, 1972). La involución temprana de algunos órganos linfoides ha sido evidenciada como parte del desarrollo fisiológico relacionado a la edad (Gruver *et al.*, 2007; Tizard, 2009); la involucion del timo presenta varias causas entre las que se cuentan: agentes infecciosos como bacterias, virus, parásitos, hongos; además de otros factores como el estrés, estados fisiológicos condicionada por las hormonas sexuales, desnutrición y exposición a agentes quimioterápicos (Hince *et al.*, 2008; Ansari y Liu, 2017)

En camellos bactrianos de 1 a 20 años, los cambios macroscópicos de las PP del intestino delgado, refieren que entre el 3.^{er} a 5.^o año, se registra la mayor cantidad de PP, posteriormente, aunque la cantidad declina; sin embargo, en relación a la forma y tamaño solo se observan cambios leves (Qi *et al.*, 2011). Por otra parte, en camellos dromedarios Zidan y Pabst, (2008) reportan que, a pesar de no observarse variación en la forma o la disposición de las PP del íleon, con relación a la edad, existe incremento en el número de pliegues intestinales en especímenes de 25 años de edad.

Los cambios histológicos de las PP del íleon, indican engrosamiento de las paredes laterales de las estructuras de copa de las PP en camellos adultos, en relación a especímenes jóvenes, la cantidad, tamaño y diámetro de los folículos linfoides también incrementan con la edad (Alluwaimi *et al.*, 1998). Por otra parte, otros órganos linfoides como los agregados linfoides de abomaso y linfonodos, no presentan cambios significativos en la población celular linfoide en especímenes de hasta 12 años de edad (Zidan y Pabst, 2012).

La ontogenia post natal de las PP de la alpaca, varía en relación a la porción intestinal. Desde el primer día de nacimiento, en las JPP como en las IPP los folículos linfoides, El IFA y el SED son claramente apreciables; los folículos presentan mayor densidad celular en la zona cortical que en la medular. Aunque, durante los primeros 14 días de vida, los folículos linfoides, son más pequeños en las JPP, con relación a las IPP, esta condición cambia drásticamente antes de los 45 días post nacimiento, así los folículos linfoides de las IPP llegan a alcanzar gran extensión de la submucosa, pero forman áreas linfoides con baja densidad celular, distribuidas de manera uniforme (Roca *et al.*, 2014).

En cuanto a la ontogenia, las JPP presentan desarrollo gradual y progresivo durante los primeros 45 días de vida; mientras que, las IPP presentan cierta estacionalidad en los primeros 14 días postnacimiento. Las JPP presentan menor cantidad de folículos linfoides en los primeros días de vida, con respecto a las IPP; pero estas incrementan en cantidad, con un aumento proporcional del área en la submucosa; las JPP a partir del 18.^o día de vida presentan un significativo incremento en el desarrollo y persisten durante toda la vida del animal; mientras que, las IPP sufren involución a partir de esta edad, pero aunque la cantidad de folículos linfoides disminuye, no se observa disminución del área que abarca en la submucosa del íleon (Roca *et al.*, 2014).

Aunque las alpacas, al nacimiento presentan madurez completa en casi todos los órganos (Bustanza, 2001); no obstante, es común observar severa hipogammaglobulinemia en crías, probablemente debido al pobre intercambio de inmunoglobulinas, por el tipo de placentación

epiteliocorial (Weaver *et al.*, 2000; Olivera *et al.*, 2003). Las crías, permanecen con sus madres hasta ser destetadas entre el 6.º y 9.º mes de vida, y forman los grupos de tuis, que abarca crías desde el destete hasta el 18.º mes; las hembras generalmente entran a la etapa reproductiva al 2.º año de vida y los machos al 3.º año; a partir del 12.º año, las alpacas se consideran animales gerontos y en promedio viven 14 años (Huanca, 2020).

Las alpacas son animales de conducta gregaria; en sistemas de pastoreo de tipo extensivo forman manadas, con un marcado sistema de jerarquía; conformado generalmente por un macho fuerte que dirige la manada, y que posee un alto grado de territorialidad, seguido de machos menos dominantes, hembras y crías. El instinto de convivencia gregaria, demuestra que las alpacas son dependientes unas de otras, con el fin de conseguir seguridad y protección frente a situaciones de amenaza; los integrantes de la manada siguen de manera fehaciente al líder de la manada (Huanca, 2020).

El bienestar de las alpacas, esta condicionado a factores medio ambientales y de crianza; éstos últimos implican aspectos relacionados a la alimentación, alojamiento e interacción del manejo. Al igual que los demás camélidos sudamericanos, tienen gran capacidad para huir, cuando perciben algún peligro, y a menudo reaccionan adversamente a la sujeción, y en su intento de resistencia pueden llegar a lastimarse o lastimar a sus cuidadores. Los mecanismos de defensa ante el peligro, incluyen posiciones corporales que desencadenan en acciones agresivas como saltos, persecuciones, escupitajos, luchas y fuertes vocalizaciones; aunque estas conductas son habituales en machos territoriales; no obstante, también se la observa en animales con poco contacto humano (Bustinza, 2001; Bennett y Richards, 2015).

La respuesta al estrés en las alpacas relacionado al manejo durante la esquila, incluyen alteraciones clínicas que afectan la temperatura corporal, la frecuencia cardíaca y la frecuencia respiratoria; también se ha reportado aumento de las concentraciones de cortisol en la saliva, como de metabolitos del cortisol fecal en todos los animales sometidos a diferentes métodos de esquila (Wittek *et al.*, 2017; Piccione *et al.*, 2017).

Las irregularidades en el factor del medio ambiente causan efectos adversos en la alimentación de los animales, la privación nutricional especialmente relacionados a niveles de energía y proteína trae como consecuencias disminución en el desempeño productivo y reproductivo (Van Saun, 2008). Por otra parte, se ha demostrado deficiencia estacional de Calcio, Fósforo y vitamina D entre los meses de enero a marzo, de acuerdo a este patrón estacional, se ha observado la aparición de enfermedades metabólicas (Van Saun *et al.*, 1996).

La disfunción inmunitaria relacionada con la edad se define en general como inmunosenescencia e incluye un aumento en el número de células T de memoria, pérdida de la capacidad de responder a los antígenos y un nivel persistente de inflamación de bajo grado (Lee *et al.*, 2022). Estudios recientes sugieren que la inmunosenescencia en humanos está relacionada al estrés crónico, los mediadores químicos del estrés, la edad y la exposición a glucocorticoides. El aumento relacionado con la edad en la relación cortisol dehidroepiandrosterona podría entenderse como un determinante principal de los cambios inmunológicos observados durante el envejecimiento (Bauer, 2008). El envejecimiento inmunológico, que comprende el deterioro del sistema inmunológico asociado con la edad y el aumento de la inflamación, está asociado con la morbilidad y la mortalidad (Reed, 2019).

III MATERIALES Y METODOS

3.1. Lugar y periodo de ejecución

Las actividades para alcanzar los objetivos del presente estudio, se efectuaron durante los años 2017 al 2023. Los lugares para la recolección de muestras fueron: el camal municipal de Huancavelica, ubicado en el departamento y provincia de Huancavelica, a 3660 msnm; y el Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura (IVITA) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM), ubicado en el distrito de Maranganí, provincia de Sicuani, departamento de Cusco, a 3800 msnm.

El procesamiento y análisis de muestras para los estudios anatómico e histológico se realizó en los siguientes lugares: el laboratorio de Anatomía animal y fauna silvestre de la Facultad de Medicina Veterinaria - UNMSM y el laboratorio de Patología general del Centro de diagnóstico de sanidad animal - Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA). Mientras que, el procesamiento y análisis de muestras de microscopia electrónica de barrido, se realizó en el Laboratorio de Equipamiento Especializado (LEE) de la Facultad de Ciencias Biológicas - UNMSM, y en el Centro Avanzado de Diagnóstico por Imágenes (CADI) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de São Paulo– Brasil.

3.2. Material biológico

Se emplearon 82 especímenes de alpacas, organizados en seis grupos etarios que correspondieron a: fetos de primer, segundo y tercer tercio de gestación, animales crías menores,

crías mayores y especímenes adultos; los cuales, se distribuyeron en los estudios de anatomía, histología y de SEM (Cuadro 1).

Los especímenes adultos, se obtuvieron a partir de animales de saca que llegaron al camal; se seleccionaron mediante muestreo por conveniencia e incluyeron animales de la raza huacaya, de ambos sexos; en cambio, se excluyeron los animales que presentaron evidencia clínica de enfermedad, y aquellos que no correspondieron a la edad establecida. Los especímenes fetos, se obtuvieron a partir de alpacas madres preñadas, y estas, se seleccionaron con las mismas consideraciones de los especímenes adultos.

Las muestras de especímenes crías, se obtuvieron del banco de muestras pertenecientes al proyecto: “Caracterización del desarrollo del tracto intestinal en crías de alpacas” aprobado mediante convenio FINCyT PIBAP N° 65; el manejo de los animales fue en la estación del Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura (IVITA) Marangani (Cuadro 1).

Cuadro 2: Especímenes para el estudio ontogénico de las placas de Peyer de la alpaca.

	Grupos Etarios	Rango de edad	Procedencia de especímenes	Estudio programado ¹			Total
				Anat.	Hist.	SEM	
prenatal	F1	10 – 22 semanas	Huancavelica	5	7	0	12
	F2	24 – 34 semanas	Huancavelica	6	6	2	14
	F3	36 – 46 semanas	Huancavelica	6	12	4	22
posnatal	C0	0 – 7 días	Sicuani	0	5	0	5
	C3	21 – 45 días	Sicuani	0	5	0	5
	A	3 – 6 años	Huancavelica	10	10	4	24
Total				27	45	10	82

¹indica el tipo de estudio programado: Anat, anatomía. Hist, histología. SEM, microscopia electrónica de barrido. F1, F2, F3, fetos de primer, segundo y tercer tercio de gestación respectivamente. C0, especímenes crías. C3, especímenes crías. A, especímenes adultos. Datos tomados a partir del Anexo 1.

La estratificación etaria de los especímenes adultos, se determinó mediante cronología dentaria de acuerdo a las consideraciones propuestas por Fowler, (2010); para este fin, se examinó las dentaduras de los especímenes seleccionados, y la edad aproximada, se expresó en años (Anexo 1).

La edad de los especímenes fetos, se calculó aplicando la fórmula de coeficiente de regresión propuesta por Gazitúa *et al.*, (2001), la misma que se basa en medidas biométricas como el peso corporal, largo, altura del cuerpo y diámetro biparietal (DBP); se utilizaron, balanzas, cintas métricas y calibre digital de tipo Vernier. La edad calculada, se expresó en semanas de desarrollo gestacional, los especímenes se agruparon en fetos de primer, segundo y tercer tercio de gestación; el intervalo etario fue de dos semanas, considerando en lo posible semanas pares (Anexo 1). No se consideraron especímenes menores de 60 días, debido a la falta de diferenciación fenotípica propia de la especie y escasa formación de los órganos internos (Evans y Sack, 1973; Bravo y Varela, 1993; Rodrigues *et al.*, 2014).

Para determinar la edad en el grupo de crías, se verificó los registros del banco de muestras pertenecientes al proyecto cooperante. Los valores etarios se expresaron en semanas de desarrollo posnatal; clasificándose en muestras de especímenes menores de una semana de nacidos y muestras de especímenes entre 3 a 6 semanas de edad.

3.3. Consideraciones éticas

El material biológico utilizado, provino de animales de descarte de comunidades alpaqueras destinadas al consumo humano que llegaron al camal; el trabajo pertenece al “Círculo de investigación en la morfogénesis de los órganos linfoides e inmunitarios de la alpaca (*Vicugna pacos*)” y contó con constancia de aprobación N° 2018-004 del comité de ética y bienestar animal (CEBA) de la Facultad de Medicina Veterinaria - UNMSM.

3.4. Metodología

3.4.1. Técnicas de recolección de muestras

Las vísceras de la cavidad abdominal, fueron recuperadas rápidamente luego del sacrificio de los animales adultos seleccionados; el íleon, se obtuvo por disección *ex situ* siguiendo las pautas dadas por Pérez *et al.*, (2016) y Vater *et al.*, (2021). Los especímenes fetos, se obtuvieron previa recolección de los úteros grávidos de las alpacas madres, se aperturó los cuernos uterinos, se eliminó las membranas fetales y se abordó al feto, y se procedió a extraerlo; luego se aperturó la cavidad abdominal de los fetos y se extrajo las vísceras del sistema digestivo, la obtención del íleon, se consiguió siguiendo los mismos procedimientos realizados en especímenes adultos.

Para la obtención de muestras de PP del íleon, se empleó el tipo de muestreo sistemático no probabilístico, que consistió en la elección de dos puntos constantes en el íleon: en la porción proximal, el lugar de referencia fue el área aledaña a la arteria ileal antimesentérica; mientras que, en la porción distal, fue el área contigua anterior a la válvula ileal (Figura 5A) (A. Sato, Lima, comunicación personal).

Para el grupo de crías, se evaluaron todas las láminas histológicas de íleon almacenadas en el banco de muestras del proyecto cooperante, y de estas se seleccionaron aquellas que presentaron PP; se descartaron las muestras que no presentaron tejido linfoide de PP o que lo hicieron de manera parcial; así como las que no concordaron con los intervalos de edad programada.

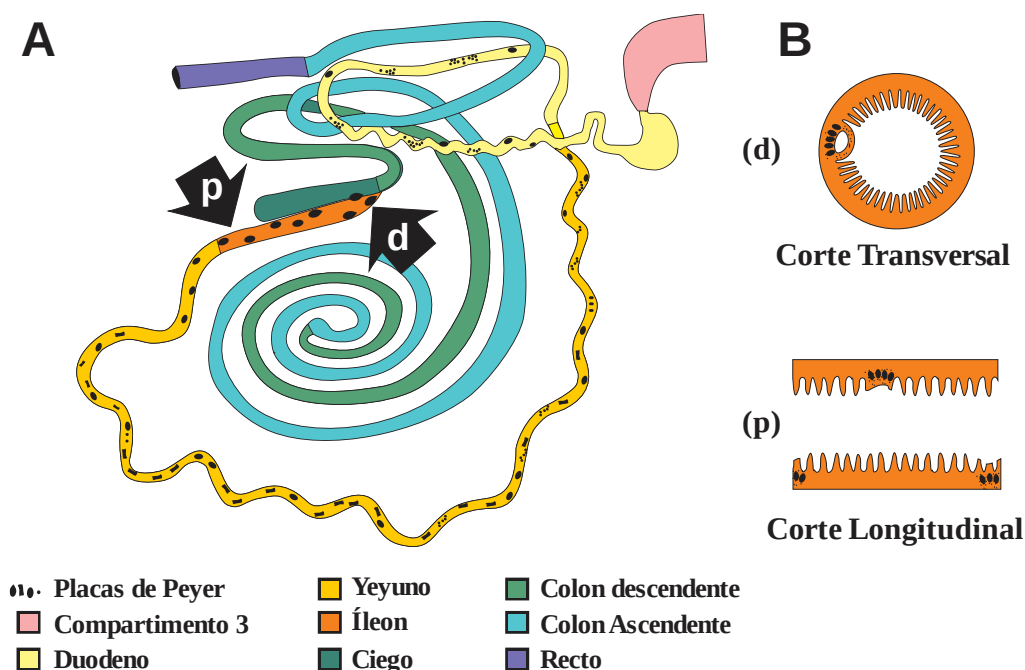


Figura 5. Técnica de muestreo de las placas de Peyer del íleon de la alpaca. A, distribución longitudinal de placas de Peyer en intestino delgado; las flechas señalan los puntos de reducción (p), proximal; (d), distal. B, Cortes histológicos de las muestras. Fuente: comunicación personal obtenido de Sato, 2018.

3.4.2. Técnicas de estudio para anatomía

Las piezas de íleon, estuvieron fijadas en solución de formalina al 8%, fueron diseccionadas *ex situ*, de acuerdo a las consideraciones dadas por Gil *et al.*, (2012) y Pérez *et al.*, (2016), se describió el íleon en relación a los órganos adyacentes, registrando su longitud y

diámetro. Para describir las PP, se accedió a la mucosa ileal, por incisión del borde mesentérico del íleon, se retiró cuidadosamente el contenido intestinal, se procedió a lavar con solución salina al 0.9% con la finalidad de exponer la mucosa, luego se examinó y registró la totalidad de PP visualizadas.

La clasificación morfológica de los tipos de las PP del íleon, se realizó de acuerdo a las consideraciones dadas por: Alluwaimi *et al.*, (1998); Zidan y Pabst, (2008) y Qi *et al.*, (2011); se registró la cantidad y se examinó la ubicación dentro de la mucosa del íleon; se registró datos biométricos como el tamaño tomándose como referencia el largo y ancho. La descripción anatómica se realizó de acuerdo a las pautas dadas por la Nomenclatura Anatómica Veterinaria (ICVGAN, 2017). La fotodocumentación de las piezas de pequeño tamaño, fue obtenida utilizando un esteroscopio binocular de la marca Leica, modelo EZ4E, que cuenta con cámara digital incorporada, con Software LAS 4.7 Leica MacroSystems; mientras que, para piezas de mayor tamaño se utilizó una cámara digital Canon HD35X.

3.4.3. Técnicas de estudio para histología

Las muestras correspondieron a piezas de íleon de 0.5 a 1.0 cm, estuvieron fijadas en formol tamponado al 10%; se sometieron a procedimientos de técnicas histológicas según los protocolos metodológicos de Bancroft descritos por Suvana *et al.*, (2018); las muestras se incluyeron en bloques de parafina y se obtuvieron cortes histológicos de 5 µm de espesor, las coloraciones utilizadas fueron de Hematoxilina de Mayer y Eosina (HE) y tricrómico de Masson; los cortes histológicos, fueron en presentación longitudinal para la porción proximal del íleon, sólo en especímenes fetos, y en presentación transversal para la porción distal del íleon (Figura 5B) (A. Sato, Lima, comunicación personal).

El análisis histológico y la fotodocumentación de las PP del íleon, se realizó utilizando un microscopio binocular de la marca Leica, modelo DM750, acoplada con cámara digital modelo ICC50-HD y Software LAS 4.7 Leica MacroSystems; para la edición de las imágenes panorámicas se utilizó el programa Adobe Photoshop 6.0, function photomerge (acople de imágenes) y CorelDRAW X7. La descripción de los aspectos morfológicos y ontogénicos se realizó de acuerdo a los hallazgos y recomendaciones realizados por Gebert *et al.*, (1996); Cesta, (2006); Brandtzaeg *et al.*, (2008); ICVHN, (2017) y ICVGAN, (2003).

3.4.4. Técnicas de estudio para microscopía electrónica de barrido

Las muestras correspondieron a piezas de PP de 2 mm², y fueron preservadas en solución de Glutaraldehído al 2.5%, mantenidas en estado de refrigeración y protegidas de la luz hasta su remisión al laboratorio de SEM; para eliminar la solución fijadora se lavó varias veces con solución tamponada; la deshidratación se realizó usando batería de alcoholes de series crecientes, con concentraciones de: 70%, 80%, 90% y 100% y por periodos de tiempo de 30, 10, 10 y 10 minutos respectivamente; para el secado se utilizaron los dispositivos de punto crítico de las marcas: LEICA EM CPD 300[®] (CADI-USP) y SPLI SUPPLIES[®] (LEE-UNMSM), las muestras se fijaron en cintas de carbono en plataformas metálicas de aluminio “stub”, y posteriormente se metalizaron "sputting" con baño de oro en los dispositivos de metalización EMITECH K550[®] (CADI-USP) y EDAX AMETEK[®] (LEE-UNMSM). Posteriormente, para el análisis y fotodocumentación se utilizaron los microscopios electrónicos de barrido de las marcas LEO 435VP[®] (CADI-USP) y FEI modelo INSPECT-F50 (LEE-UNMSM) (Anexo 2).

IV RESULTADOS

4.1. Relación ontogénica entre el íleon de la alpaca y sus placas de Peyer

4.1.1. Ontogenia del íleon: aspectos anatómicos

En la alpaca, los eventos ontogénicos de las PP del íleon, estuvieron estrechamente relacionados con la formación del íleon como órgano. Al examen macrocópico, durante todo el proceso ontogénico, el íleon constituyó la última parte del intestino delgado; delimitó con el intestino grueso mediante la válvula ileal; y ésta, a la vez, fue punto de entrada al ciego. El cuerpo del ciego, estuvo adherido al íleon en dirección craneal, por el pliegue ileocecal (Figura 6). La arteria ileal antimesentérica irrigó al íleon por el borde antimesentérico, ésta se originó en el tronco ileo-cecocolico, como una rama de la arteria mesentérica craneal.

Las medidas biométricas del íleon, registraron un incremento notorio con respecto a la edad (Cuadro 3); en fetos de 14 semanas de gestación la longitud fue de apenas 2.2 cm (Figura 6A), en fetos de 46.^a semana, que son próximos al nacimiento la longitud del íleon alcanzó a 12.8 cm (Figura 6C) y a la edad adulta, en promedio se registró 22.38 ± 5.82 cm (Figura 6D). Por otra parte, este mismo patrón de crecimiento y desarrollo anatómico fue observado con respecto al diámetro del íleon (Cuadro 3).

La exploración macroscópica de la mucosa, no fue posible sino hasta después de la 32.^a semana de gestación, la dificultad principal consistió en la disección de las piezas anatómicas del íleon, esto debido al pequeño tamaño que presentaron en estas semanas de gestación (Figura 6A).

A la 32.^a semana, la superficie de la mucosa, tanto en la porción proximal del íleon como en la distal, fueron considerablemente similares, y se caracterizaron por presentar la apariencia de una superficie uniforme, tupida y aterciopelada (Figura 7A1).

A partir de la 37.^a semana de gestación, se apreciaron los pliegues intestinales, que se caracterizaron por ser protuberancias a manera de rugosidades irregulares, que recorrieron longitudinal y transversalmente el lumen del íleon (Figura 7B); los pliegues, incrementaron en tamaño y aumentaron en cantidad conforme avanzó la edad; a la 46.^a semana, fueron notoriamente evidenciables, y dieron a la mucosa la apariencia de una superficie irregularmente enrejillada, debido a la abundante cantidad de pliegues; este patrón morfológico, se mantuvo posteriormente en la etapa adulta (Figura 7C1 y 7C2).

Cuadro 3. Anatomía de la ontogenia del íleon de la alpaca y sus placas de Peyer

Edad (Sem)	Íleon		Cant (und)	PP copa		PP conos-crateriformes		
	Largo (cm)	Diámetro (mm)		Largo (mm)	Ancho (mm)	Cant (und)	Largo (mm)	Ancho (mm)
F1 (n=5)								
14.7	2.2	0.75	NO	NO	NO	NO	NO	NO
17.2	2.8	1.50	NO	NO	NO	NO	NO	NO
18.8	2.9	1.50	NO	NO	NO	NO	NO	NO
19.9	3.2	1.50	NO	NO	NO	NO	NO	NO
21.6	3.5	1.50	NO	NO	NO	NO	NO	NO
F2 (n=6)								
24.2	4.1	1.50	NO	NO	NO	NO	NO	NO
24.6	4.2	1.50	NO	NO	NO	NO	NO	NO
26.7	4.5	2.00	NO	NO	NO	NO	NO	NO
31.2	5.1	2.00	NO	NO	NO	NO	NO	NO
32.9	5.8	2.50	NO	NO	NO	NO	NO	NO
34.3	6.2	2.50	NO	NO	NO	NO	NO	NO
F3 (n=6)								
36.0	6.6	2.80	NO	NO	NO	NO	NO	NO
38.4	6.7	3.00	NO	NO	NO	NO	NO	NO
40.0	7.0	3.00	NO	NO	NO	NO	NO	NO
41.8	9.5	4.00	2	3.00	1.00	2	3.00	1.50
44.5	12.0	5.00	2	4.00	1.50	3	4.00	2.00
45.0	12.8	5.50	3	4.00	2.00	4	4.00	2.00
A (n=10)								
Prom	22.38	17.3	3.88	11.81 ^a	6.88 ^{*a}	5.00	14.91 ^b	7.34 ^{*b}
DS	±5.82	±4.10	±1.89	±3.71	±2.20	±1.20	±4.80	±2.45

ab, *a*b distintos superíndices dentro de las filas indican diferencia significativa (p<0.05)

F1, F2, F3, fetos de primer, segundo y tercer tercio de gestación respectivamente. A, especímenes adultos (3 a 6 años). Sem, semanas de desarrollo fetal. Cant, cantidad de PP. prom, promedio. DS, desviación estándar. NO, No observado.

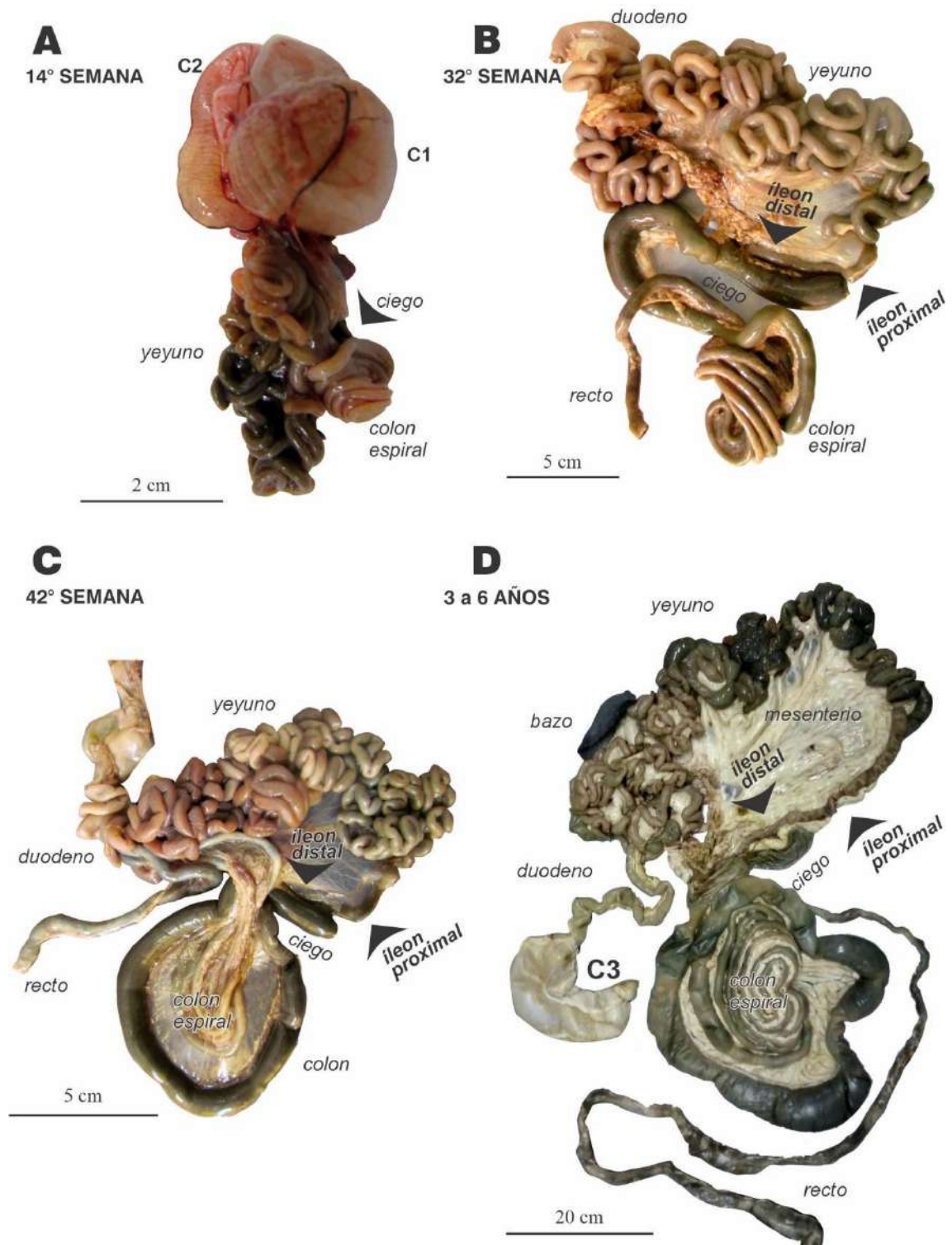


Figura 6. Ontogenia del sistema digestivo *ex situ* de la alpaca (Anatomía). A, feto de 14.^a semana. B, feto de 32.^a semana. C, feto de 42.^a semana. D, espécimen adulto de 3-6 años. las flechas señalan la porción proximal y distal del íleon. C1, C2 y C3 compartimentos 1, 2 y 3 del estómago.

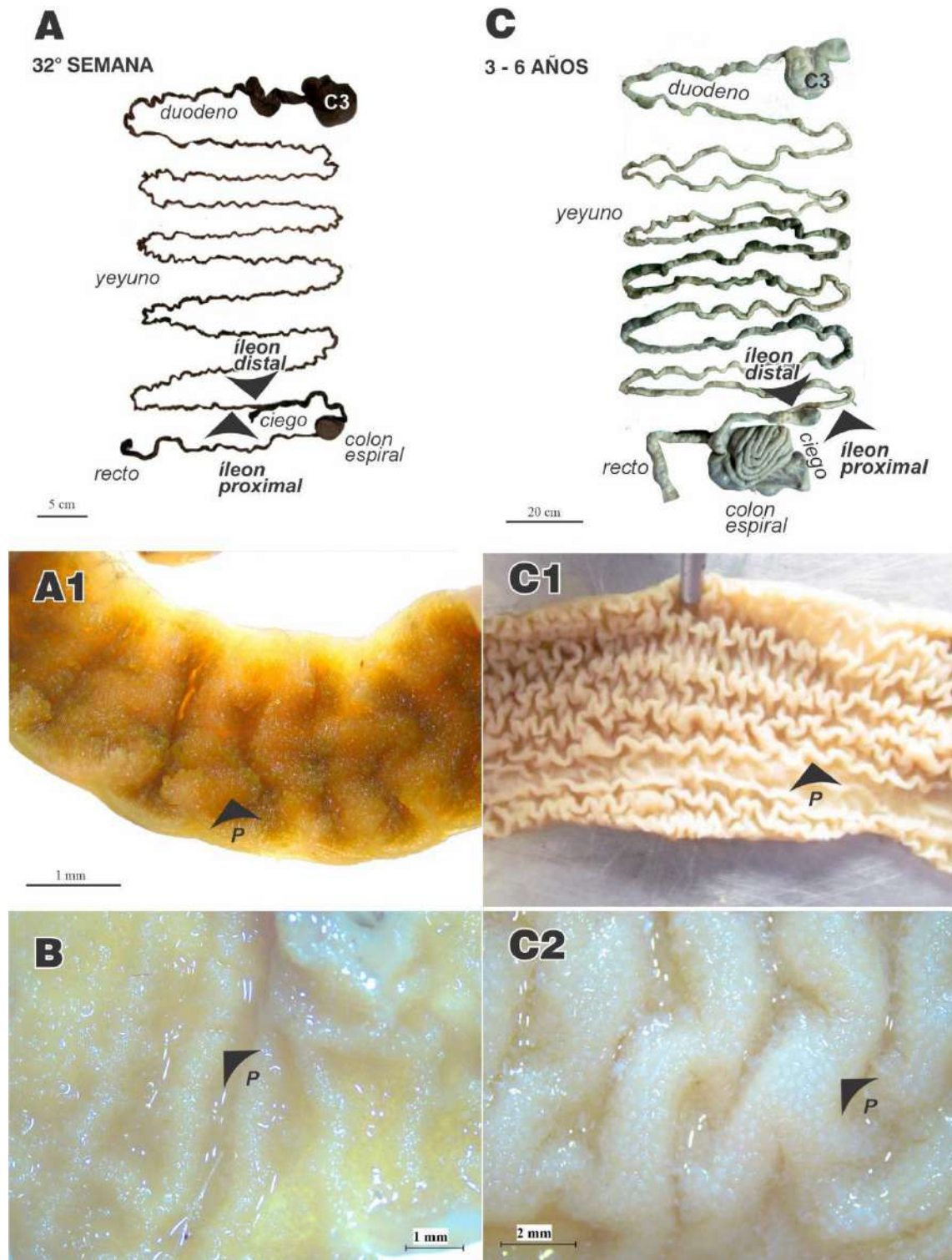


Figura 7. El íleon y la mucosa ileal de la alpaca (Anatomía). A intestino delgado extendido de feto de 32.^a semana de gestación. A1, mucosa del íleon de feto de 32.^a semana (imagen *ex situ* 8x). B, acercamiento de la mucosa del íleon de feto de 37.^a semana de gestación (imagen *ex situ* 12.5x). C, intestino delgado extendido de espécimen adulto, C1, mucosa del íleon de espécimen adulto. C2, acercamiento de la mucosa del íleon de espécimen adulto (imagen *ex situ* 12.5x). C3: compartimento 3 del estómago de alpaca. P: pliegues intestinales.

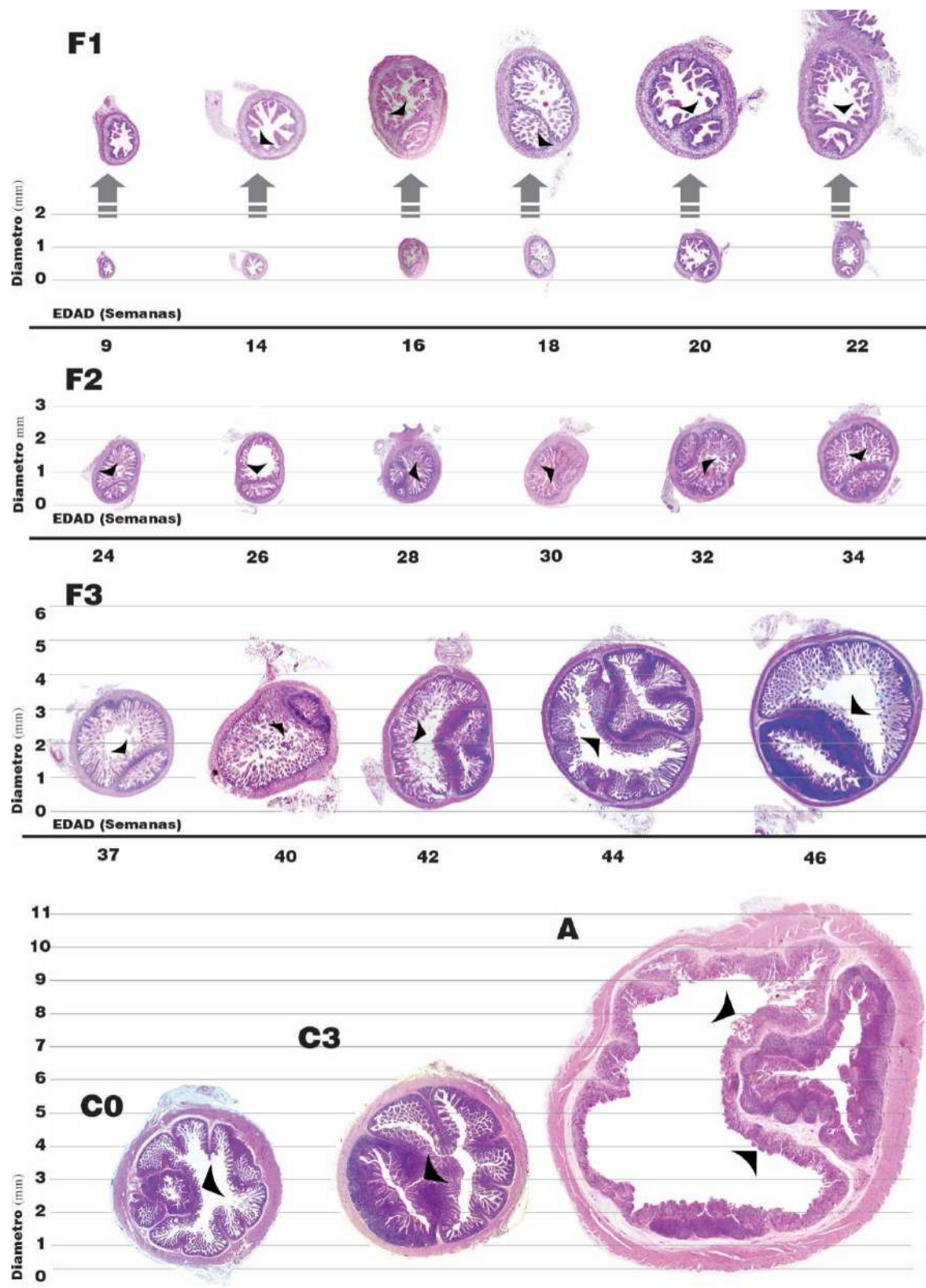


Figura 8. Ontogenia de la porción distal del íleon de la alpaca (Histología). F1, F2 y F3, corte transversal del íleon (HE) de fetos de primer, segundo y tercer tercio de gestación respectivamente (la edad se expresa en semanas de desarrollo gestacional, y las imágenes del grupo F1 se duplicaron y se presentan a escala aumentada). C0, corte transversal del íleon (HE) de crías de 0 a 7 días de nacidas. C3, corte transversal del íleon (HE) de crías entre 21 a 45 días de nacidas. A, corte transversal del íleon (HE) de especímenes adultos entre 3 a 6 años, las flechas señalan la formación de la cavidad crateriforme de placa de Peyer.

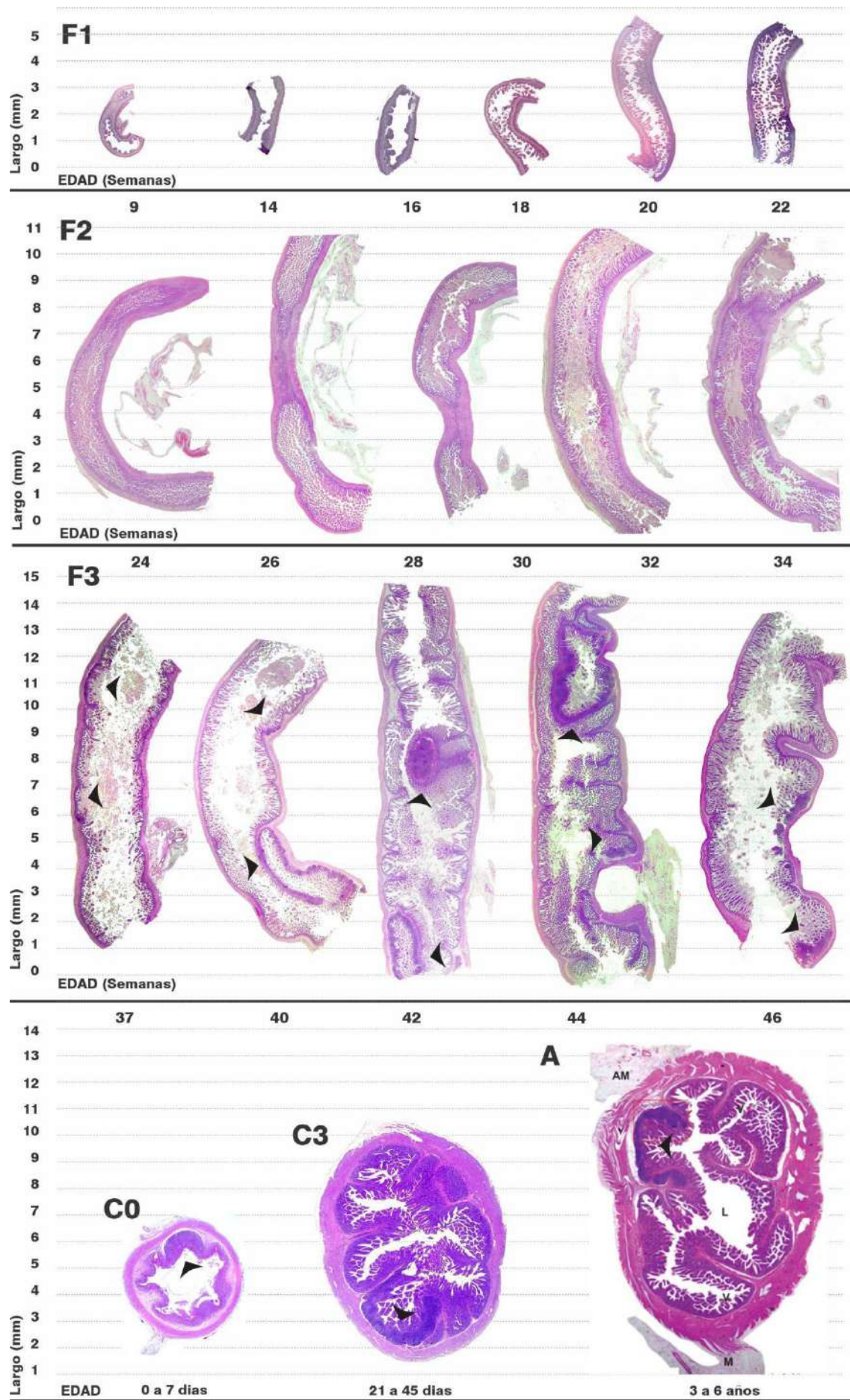


Figura 9. Ontogenia de la porción proximal del íleon de la alpaca (Histología). F1, F2 y F3, corte longitudinal del íleon (HE) de fetos de primer, segundo y tercer tercio de gestación respectivamente (la edad se expresa en semanas de desarrollo gestacional). C0, corte transversal del íleon (HE) de crías de 0 a 7 días de nacidas. C3, corte transversal del íleon (HE) de crías entre 21 a 45 días de nacidas. A, corte transversal del íleon (HE) de especímenes adultos entre 3 a 6 años, las flechas señalan la formación de la estructura de copa de placas de Peyer.

4.1.2. Ontogenia del íleon: aspectos histológicos

En todo el proceso ontogénico, el íleon de la alpaca presentó las características típicas de un órgano membranoso, con capas claramente demarcadas como son: la mucosa, submucosa, muscular y la serosa; si bien, durante las primeras semanas de gestación, las estructuras tisulares correspondieron a esbozos simples y primitivos, conforme avanzó la edad, aumentaron progresivamente en complejidad y organización tisular (Figura 11). Los cambios biométricos más notorios con respecto al crecimiento del íleon, se registraron durante las últimas semanas de gestación y durante la edad adulta (Figura 10).

La formación y desarrollo del tejido linfoide de las PP, involucró la mucosa y la submucosa. Por tanto, la exploración histológica de estas capas, fue importante y referencial para describir los eventos ontogénicos de las PP del íleon de la alpaca, en especial durante las primeras semanas de la etapa fetal (Figura 8 y 9).

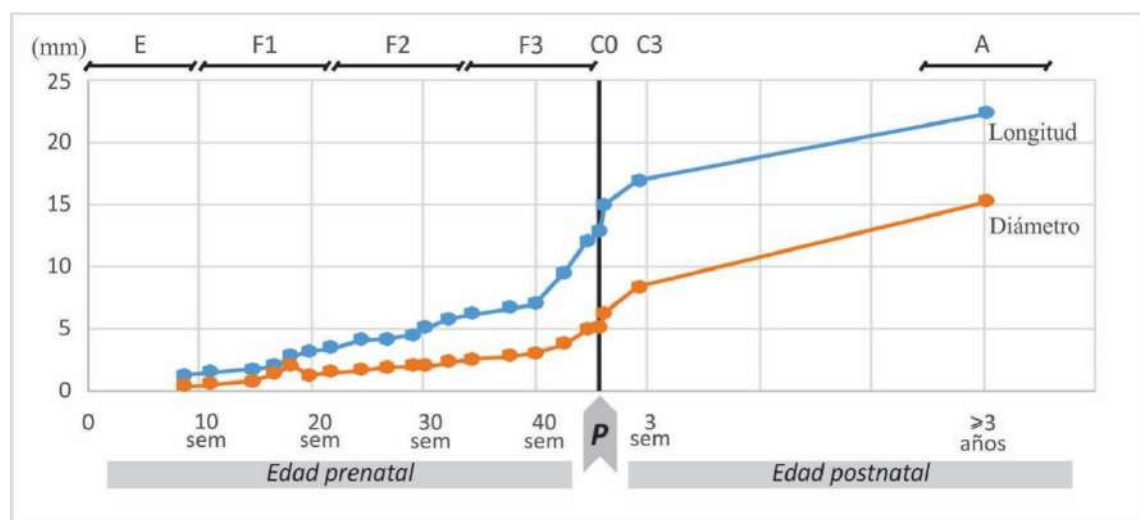


Figura 10. Curva de crecimiento del íleon de la alpaca. E, etapa embrionaria. F1, F2, F3, fetos de primer, segundo y tercer tercio de gestación respectivamente. C0, crías de 0 a 7 días de nacidas. C3, crías entre 21 a 45 días de nacidas. A, especímenes adultos entre 3 a 6 años. P, momento del parto.

Durante la etapa prenatal, a la 9.^a semana de gestación, el borde de la mucosa del íleon, describió una línea circular, con algunas evaginaciones a manera de leves ondulaciones; estas evaginaciones fueron los esbozos de las futuras vellosidades intestinales (Figura 11A). A partir de la 11.^a semana, las evaginaciones se elongaron con dirección al lumen y en el tejido conjuntivo por debajo de la mucosa, aparecieron los primeros esbozos de las criptas de Lieberkühn, a manera de pequeñas fosas (Figura 11B). El incremento en tamaño y cantidad de las vellosidades y criptas de Lieberkühn fue progresivo y constante, de modo que, a la 22.^a semana de gestación, fueron claramente apreciadas; desde la 24.^a a la 42.^a semana las vellosidades fueron tan abundantes, que en algunos especímenes llegaron a obliterar el lumen del íleon (Figura 11C y 11D), el desarrollo de las vellosidades y criptas de Lieberkühn continuó hasta las primeras semanas de etapa postnatal (Figura 11E), en la etapa adulta las vellosidades y criptas de Lieberkühn estuvieron presentes en alta cantidad y claramente diferenciadas (Figura 11F).

Los esbozos de los pliegues del íleon, se apreciaron a la 34.^a semana de gestación, pero la diferenciación con las otras estructuras de la mucosa ocurrió a partir de la 37.^a semana, no obstante, el desarrollo completo abarcó las últimas semanas de la gestación y la etapa postnatal; los pliegues intestinales en general estuvieron conformadas por la mucosa y la submucosa, fueron estructuras a manera de tabiques largos y gruesos que se proyectaron hacia el lumen; estuvo compuesto a la vez por vellosidades intestinales, que le dieron el aspecto de estructuras ramificadas (Figura 11E y 11F).

La lámina propia y la submucosa, durante las primeras semanas de gestación, conformaron un espacio único, que estuvo conformado por tejido conjuntivo moderadamente vascularizado, con elevada proporción de células en la matriz conjuntiva y sostenida por fibras colágenas de textura delgada y escasas en cantidad (Figura 11A, 11B y 11C). Hasta la 44.^a semana de gestación, no se llegó a diferenciar la lámina propia de la submucosa y el ancho de ambas capas superó en grosor a la capa muscular del íleon (Figura 11C y 11D); sin embargo, en las últimas semanas de gestación y en la etapa de crías, la muscular de la mucosa delimitó la lámina propia de la submucosa, posteriormente con el desarrollo del íleon, en el conjuntivo de ambas capas, las fibras colágenas incrementaron en grosor y se ubicaron en la parte basal de la submucosa (Figura 11E Y 11F).

A mayor aumento, a la 11.^a semana de gestación, el epitelio que recubrió la mucosa del íleon, fue de tipo estratificado y estuvo compuesto principalmente por células cilíndricas y algunas células caliciformes (Figura 12A); a partir de la 34.^a hasta la 46.^a semana, la capa epitelial cambió progresivamente a epitelio simple cilíndrico, la proporción de células caliciformes

aumentó considerablemente y las microvellosidades comenzaron a hacerse notorias en algunos segmentos del íleon (Figura 12B). En la etapa posnatal, la consolidación del epitelio se concretó con disposición lineal de las células epiteliales, las cuales presentaron microvellosidades claramente diferenciadas (Figura 12C y 12D).

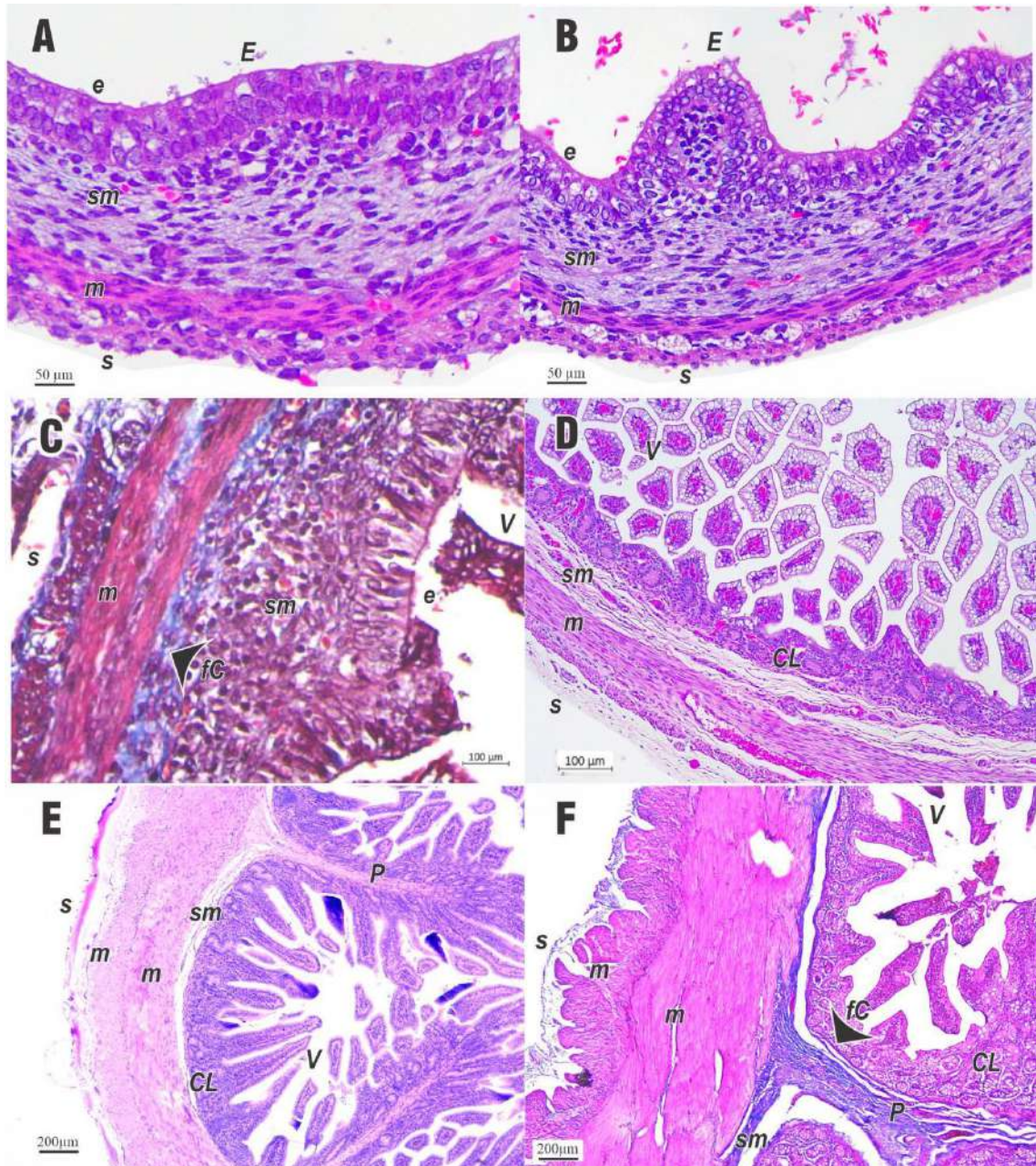


Figura 11. Ontogenía del íleon de la alpaca (Histología). A, feto de 9.^a semana de gestación (HE 10x). B, feto de 28.^a semana de gestación (HE 40x). C, feto de 32.^a semana de gestación (Tricrómico de Masson 40x). D, feto de 46.^a semana de gestación (HE 4x). E, cría de 7.^o día de vida (HE 4x). F, adulto de 3 a 6 años (Tricrómico de Masson 4x). E, evaginación de la mucosa; V, vellosidades intestinales; CL, criptas de Lieberkühn; e, epitelio; sm, submucosa; m, muscular; s, serosa; fC, fibras conjuntivas colágenas; cC, célula caliciforme; cE, célula epitelial

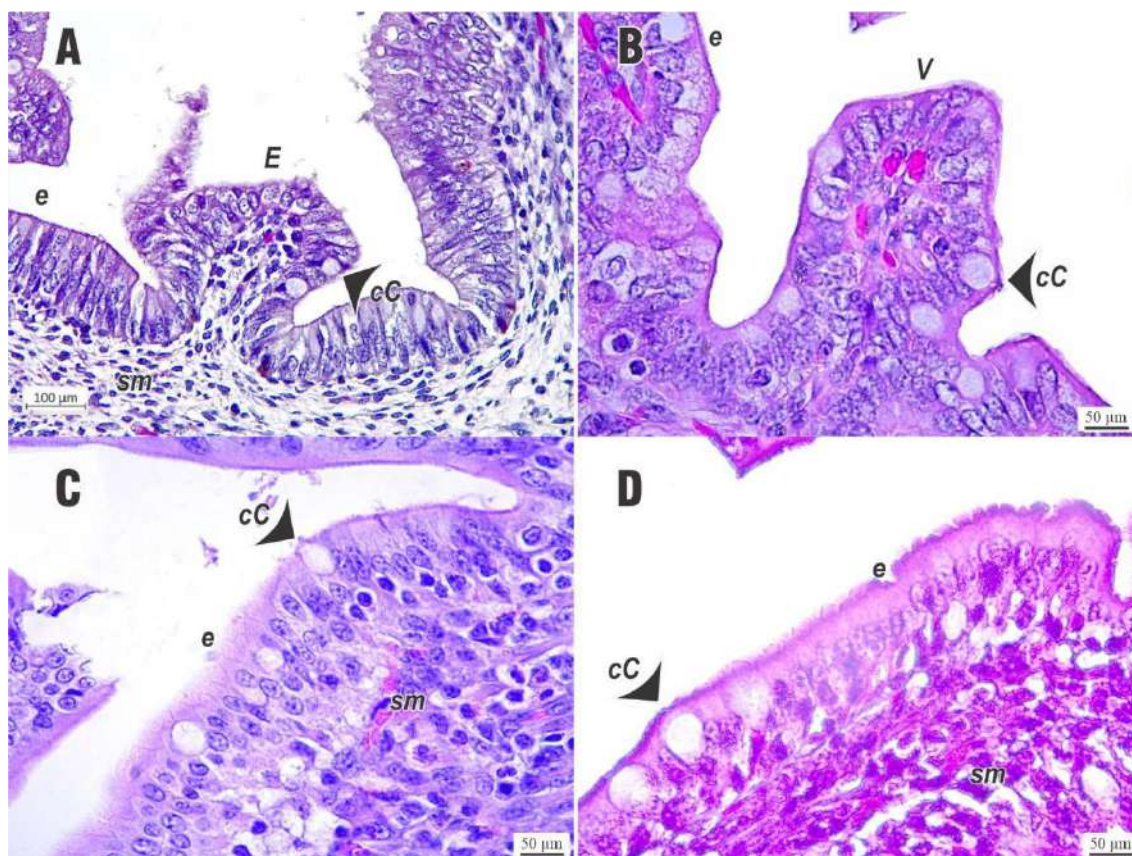


Figura 12. Ontogenía del epitelio de íleon de la alpaca (Histología). A, feto de 11.^a semana de gestación (HE 40x). B, feto de 46.^a semana de gestación (HE 63x). C, cría de 7.^o día de vida (HE 63x). D, adulto de 3 a 6 años (HE 63x). E, evaginación de la mucosa; V, vellosidades intestinales; CL, criptas de Lieberkühn; e, epitelio; sm, submucosa; cC, célula caliciforme.

4.2. Tipos de placas de Peyer en el íleon de la alpaca

El tejido linfoide de las PP de la alpaca, se alojó dentro de dos estructuras tisulares propias del íleon, dando lugar a dos tipos de PP; cada estructura de PP, fue diferente en morfología, tamaño y ubicación topográfica, y modificó considerablemente la arquitectura del íleon durante todo el proceso ontogénico. En la porción proximal del íleon, se observó la estructura de copa, y la porción distal, la cavidad crateriforme. En esta sección, se describe la ontogenia de las dos estructuras tisulares.

4.2.1. Ontogenia de las placas de Peyer del íleon: aspectos anatómicos

Macroscópicamente, las PP del íleon de la alpaca fueron estructuras anatómicas discretas y aisladas, en total el área de las PP fue pequeño en proporción al área total de la mucosa del íleon

(Cuadro 3); en todo el proceso ontogénico se observó dos tipos de PP en el íleon: las PP de tipo copa y las PP de tipo conos-crateriformes.

Durante la etapa prenatal, si bien los vestigios de formación de las PP, no se evidenciaron sino hasta la 40.^a semana de gestación; a esta edad, algunas PP primigenias fueron apreciables en medio de la vasta cantidad de pliegues intestinales a lo largo de la extensión de la mucosa del íleon, la apariencia morfológica de estos esbozos fue a manera de pequeñas protuberancias aisladas e irregulares en la mucosa. A la 42.^a semana, constituyeron estructuras de formas fusiformes; pero a partir de la 44.^a semana y sobretodo en fetos próximos a nacer, las PP del íleon se distinguieron en PP de tipo copa y PP de tipo conos-crateriformes (Figura 13A1 y 13A2).

En especímenes adultos, ambos tipos de PP del íleon fueron claramente diferenciables, las PP de tipo copa, fueron claramente reconocibles en la mucosa del íleon, debido a que fueron estructuras de área ovalada, de fondo cóncavo recubierto por una superficie cribosa, estuvo rodeado por paredes a manera de tabiques cortos y gruesos, que estuvieron constituidos por los pliegues del íleon (Figura 13B1).

Por otro lado, las PP de tipo conos-crateriformes, fueron estructuras semejantes a vesículas alargadas y voluptuosas, que estuvieron adheridas longitudinalmente a la mucosa del íleon; cada PP de este tipo, presentó una cavidad interna a manera de bóveda hueca que a la vez exhibió una abertura hacia el lumen a manera de cráter; internamente la superficie de recubrimiento fue también cribosa (Figura 13B2). En algunos especímenes, las PP de tipo conos-crateriformes presentaron aberturas crateriformes demasiado anchas, dando la apariencia de conos elevados; además de esto, en 1 de los 10 especímenes examinados, se observó coloración rojiza, en casi toda la extensión de la PP (Figura 13B3).

A partir de 44.^a semana de gestación, en la etapa prenatal y en especímenes adultos, fue posible identificar en algunos casos la presencia de PP, a través de la inspección externa del íleon o por examinación de la serosa, ya sea de manera convencional o a trasluz; sin embargo, esto no fue efectivo en todos los casos. Los cambios morfológicos externos que presentó la serosa incluyeron: coloración parduzca o tonalidades oscuras en zona de PP, dilatación y engrosamiento de las paredes intestinales (Figura 13A3).

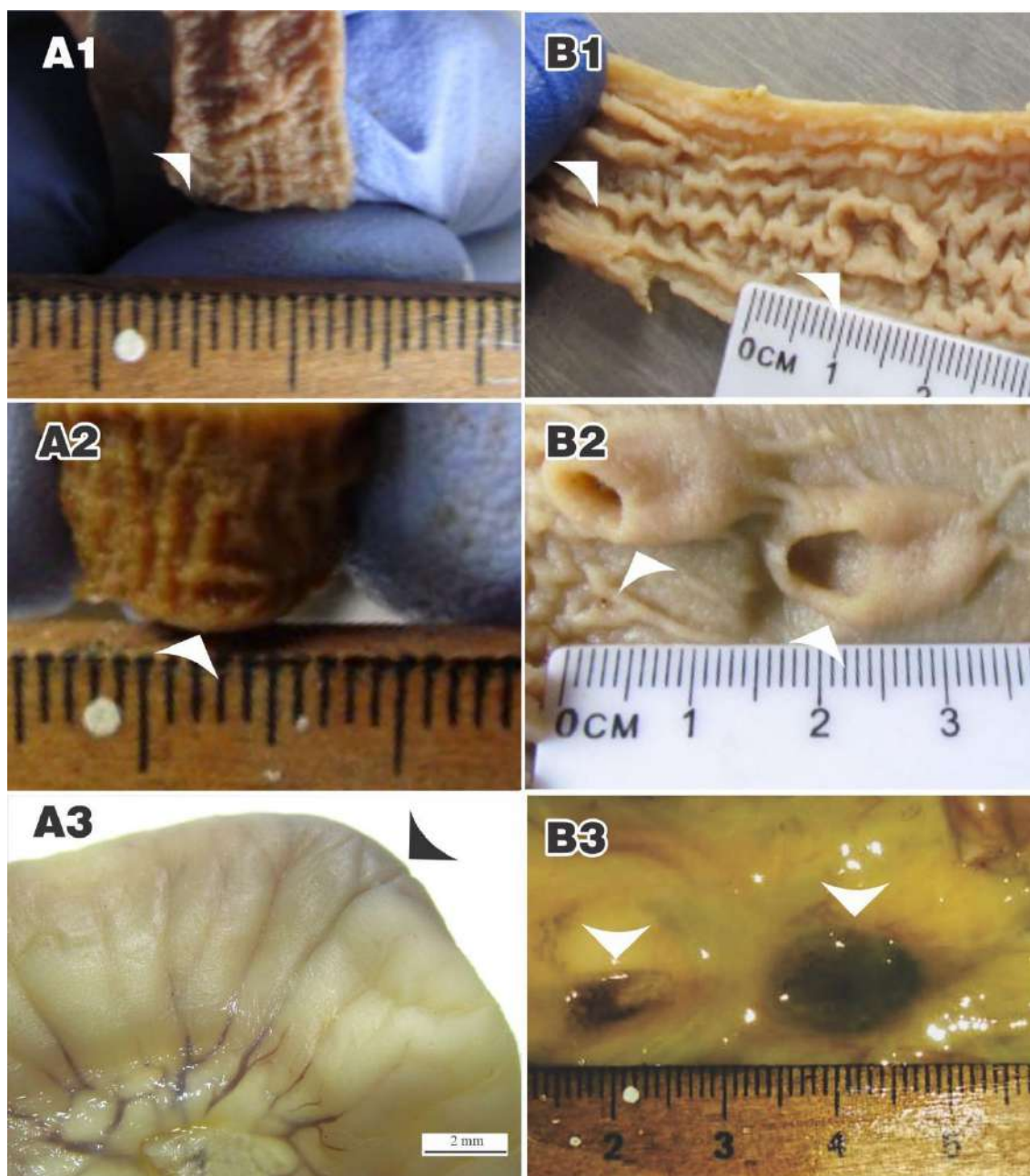


Figura 13. Ontogenia de las placas de Peyer del íleon de la alpaca (Anatomía). Columna izquierda: feto de 42.^a semana de gestación. A1, placa de Peyer tipo copa; A2, placa de Peyer tipo cono-crateriforme; A3, curvatura exterior del íleon. Columna derecha: espécimen adulto. B1, placa de Peyer tipo copa; B2, placa de Peyer tipo cono-crateriforme; B3, placa de Peyer con coloración rojisa. las flechas señalan la ubicación de las placas de Peyer.

La distribución de las PP en el íleon de la alpaca, con respecto al plano longitudinal fue de manera aleatoria; no obstante, las PP tipo copa se localizaron principalmente en la porción proximal y media del íleon, en tanto que, las PP de tipo conos-crateriformes se ubicaron en la porción distal, especialmente bordeando la parte anterior de la válvula ileal, con frecuencia se observó 2 a 3 PP de manera contigua o escasamente separados (Figura 13B2). Con respecto al

plano transversal del íleon, la tendencia de ubicación fue de 65.88% en el borde antimesentérico, 27.87% en los bordes laterales y 11.40% en el borde mesentérico.

La cantidad de PP observada en el íleon de la alpaca, varió en todo el proceso ontogénico de acuerdo al grupo etario de los especímenes estudiados. En la etapa fetal, en la porción proximal del íleon, la cantidad de PP registradas fue entre 2 a 3 PP; mientras que, en la porción distal fue entre 2 a 4. Por otra parte, en adultos, en la porción proximal del íleon, en promedio se registró la cantidad de 3.88 ± 1.89 PP; mientras que, en la porción distal el promedio registrado fue de 5.00 ± 1.20 PP; observándose diferencia significativa ($p < 0.05$) para cantidad a favor de la porción distal del íleon (Cuadro 3).

En todo el proceso ontogénico, si bien, el tamaño de ambas PP del íleon incrementó notablemente conforme avanzó la edad de los especímenes estudiados (Cuadro 3). Con respecto al tipo de PP observado en el íleon de la alpaca; en la etapa fetal, las PP de tipo copa, registraron las medidas de 4 mm de largo por 1 mm de ancho; mientras que, las PP de tipo conos-crateriformes alcanzaron a medir 4 mm de largo por 1.5 mm de ancho (Cuadro 3). En especímenes adultos, las PP de tipo copa alcanzaron el promedio de 11.81 ± 3.71 mm de largo por 6.88 ± 2.20 mm de ancho; mientras que, las PP de tipo conos-crateriformes registraron el promedio de 14.91 ± 4.80 mm de largo por 7.34 ± 2.45 mm de ancho, observándose diferencia significativa ($p < 0.05$) a favor de las PP de tipo conos-crateriformes (Cuadro 3).

4.2.2. Ontogenia de las placas de Peyer del íleon: aspectos histológicos

En el desarrollo ontogénico del íleon de la alpaca, se observó la formación de dos estructuras tisulares propias de las PP, estas estructuras proveyeron las condiciones fundamentales para el establecimiento del tejido linfoide; en las PP de tipo copa, se trató de la estructura de copa, y en las PP de tipo conos-crateriformes, lo fue la cavidad crateriforme. El examen histológico permitió describir detalles internos de los cambios morfológicos ocurridos en estas estructuras; las capas involucradas principalmente fueron la mucosa y la submucosa. Por otra parte, los eventos ontogénicos fueron progresivos e inició con la aparición de esbozos, continuando en la consolidación de estructuras desarrolladas; que a continuación se describen.

4.2.2.1. La estructura de copa

En la etapa prenatal, antes de la 32.^a semana de gestación, la porción proximal del íleon no presentó pliegues intestinales; por lo que, las estructuras de copa aún no fueron apreciables; a

la 34.^a semana, si bien, aparecieron esbozos de los pliegues ileales, pero la identificación de las estructuras de copa prácticamente resultó siendo muy confusa (Figura 15 A); sin embargo, a partir de la 37.^a semana de gestación, con la identificación del tejido linfoide propio de las PP, las estructuras de copas fueron reconocibles porque conformaron áreas ubicadas en el íleon, a nivel de los espacios que se formaban entre dos pliegues intestinales continuos (Figura 16A); a partir de la 42.^a semana, las estructuras de copa formaron parte de la arquitectura del íleon, que se reconocieron con facilidad (Figura 16A).

En la etapa postnatal, la observación panorámica de la porción proximal del íleon, mostró que las estructuras de copa fueron muy llamativas, representando un área importante en la circunferencia del íleon de los especímenes crías y adultos (Figura 17A); la estructura de copa adoptó formas de herradura, las paredes laterales que bordearon la copa estuvieron conformadas por los pliegues intestinales, estas se proyectaron hacia el lumen, a manera de tabiques cortos y gruesos; la base de la estructura de copa fue cóncava y se entremezcló con el tejido conjuntivo de la submucosa del íleon (Figura 17A).

El tamaño de la estructura de copa presentó un incremento significativo con respecto a la edad durante el proceso ontogénico; el incremento fue notorio en los especímenes del mismo grupo etario, pero fue aún más evidente entre aquellos de grupos etarios diferentes (Cuadro 4). En la etapa prenatal, durante el tercer tercio de gestación, entre la 42.^a a la 46.^a semana, la longitud de la estructura de copa fue de 1.90 mm y 2.99 mm respectivamente. En la etapa postnatal, en crías de la 1.^{ra} semana de vida, el ancho de la copa en promedio fue de 3.93 ± 1.04 mm, mientras que, a la 6.^a semana, alcanzó el promedio de 7.16 ± 0.64 mm; por otra parte, en especímenes adultos el tamaño de la copa registró promedio de 38.50 ± 4.10 mm (Cuadro 4).

4.2.2.2. La cavidad crateriforme

En la etapa prenatal, la vista panorámica de la porción distal del íleon, evidenció la presencia de la cavidad crateriforme; este evento ocurrió de manera mucho más temprana, en comparación a las estructuras de copa. A la 14.^a semana de gestación, se apreció el primer esbozo de formación cavitaria, aunque sólo alcanzó a medir 0.06 μ m, en tamaño exedió a las criptas de Lieberkuhn (Figura 14C); sin embargo, a la 16.^a semana, la cavidad crateriforme midió 0.34 μ m y a partir de esta edad, fueron apreciables nítidamente (Cuadro 4); convirtiéndose en estructuras notablemente llamativas e inconfundibles, debido al área que representaron dentro del íleon (Figura 14A, 15B y 16B); a la 28.^a semana, en un espécimen examinado, se llegó a observar dos cavidades crateriformes de forma contigua al corte transversal del íleon (Figura 15B).

La morfología de la cavidad crateriforme, fue semejante a la de anillos ovalados o elípticos; los cuales estuvieron adheridos al íleon y dividió el lumen del íleon en dos; la cavidad crateriforme, ocupó aproximadamente entre la tercera a la cuarta parte de la circunferencia del íleon (Figura 14A, 15B y 16B); el desarrollo ontogénico de la cavidad crateriforme fue similar a la del íleon, estuvo recubierta por la capa mucosa que presentó abundantes vellosidades y criptas de Lieberkuhn, las mismas que en muchos especímenes obliteraron el lumen de la cavidad crateriforme (Figura 15B y 16B); por otra parte, no hubo delimitación entre la mucosa y la submucosa, por lo que, el tejido linfático de las PP se asentó en el complejo lámina propia-submucosa.

En la etapa postnatal, con excepción del incremento del tamaño, el patrón morfológico de la cavidad crateriforme fue el mismo al observado en la etapa gestacional (Figuras 17B); los especímenes crías entre la 1.^a y la 6.^a semana de vida, el diámetro de la cavidad crateriforme presentó los promedios promedio de $4.38 \pm 0.56 \mu\text{m}$ y $7.52 \pm 0.69 \mu\text{m}$ respectivamente, mientras que, los especímenes adultos registraron promedios de $42.50 \pm 5.80 \mu\text{m}$ (Cuadro 4). Con todo, aunque las estructuras de las capas del íleon alcanzaron mayor desarrollo, la delimitación entre la lámina propia y la submucosa aún no estuvo clara, la muscular de la mucosa se encontró bordeando la parte basal de la mucosa, pero de manera entrecortada (Figura 23C1).

El crecimiento y desarrollo de la cavidad crateriforme y del íleon, presentó correlación positiva durante todo el proceso ontogénico; la diferencia registrada en biometría fue notoria entre los especímenes del mismo grupo etario, pero esta diferencia fue mucho mas notoria entre especímenes de distintos grupos etarios (Cuadro 4). En todo el proceso ontogénico, el tamaño y el área de la cavidad crateriforme, fue significativamente mayor ($p < 0.05$) al tamaño y área de la estructura de copa (Cuadro 4).

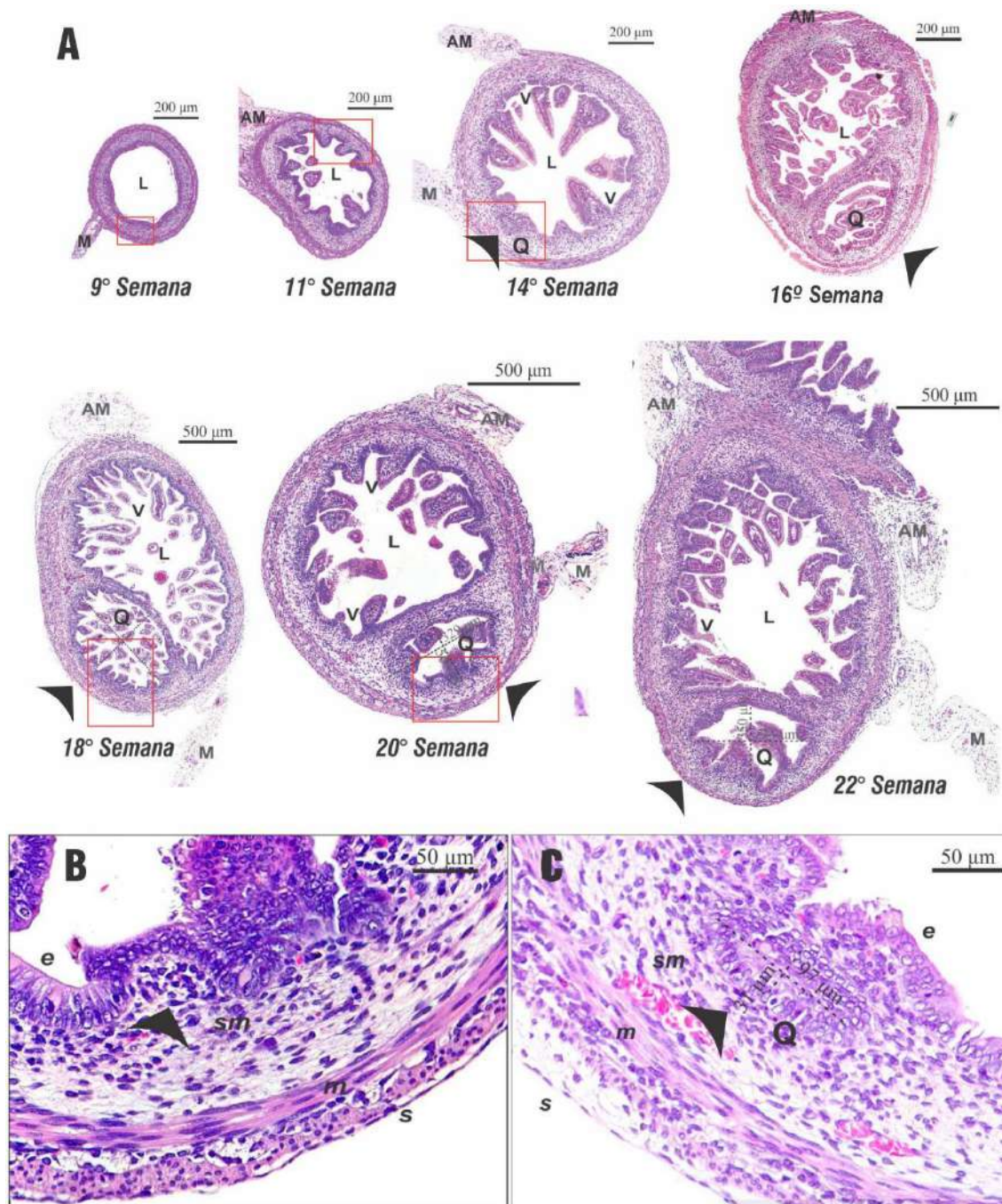


Figura 14. Ontogenia de las estructuras de las placas de Peyer del íleon de la alpaca, durante el primer tercio de gestación (Histología). A, corte transversal de la porción distal del, las flechas señalan la cavidad crateriforme. B, íleon en feto de 11.^a semana de gestación (HE 40x), la flecha señala grupo de células en evaginación. C, íleon de feto de 14.^a semana de gestación (HE 40x), la flecha señala esbozo de la cavidad crateriforme. AM, pliegue antimesenterial; M, mesenterio; L, Lumen; E, evaginación de la mucosa; V, vellosidades intestinales; Q, Cavidad crateriforme; e, epitelio; sm, submucosa; m, muscular; s, serosa.

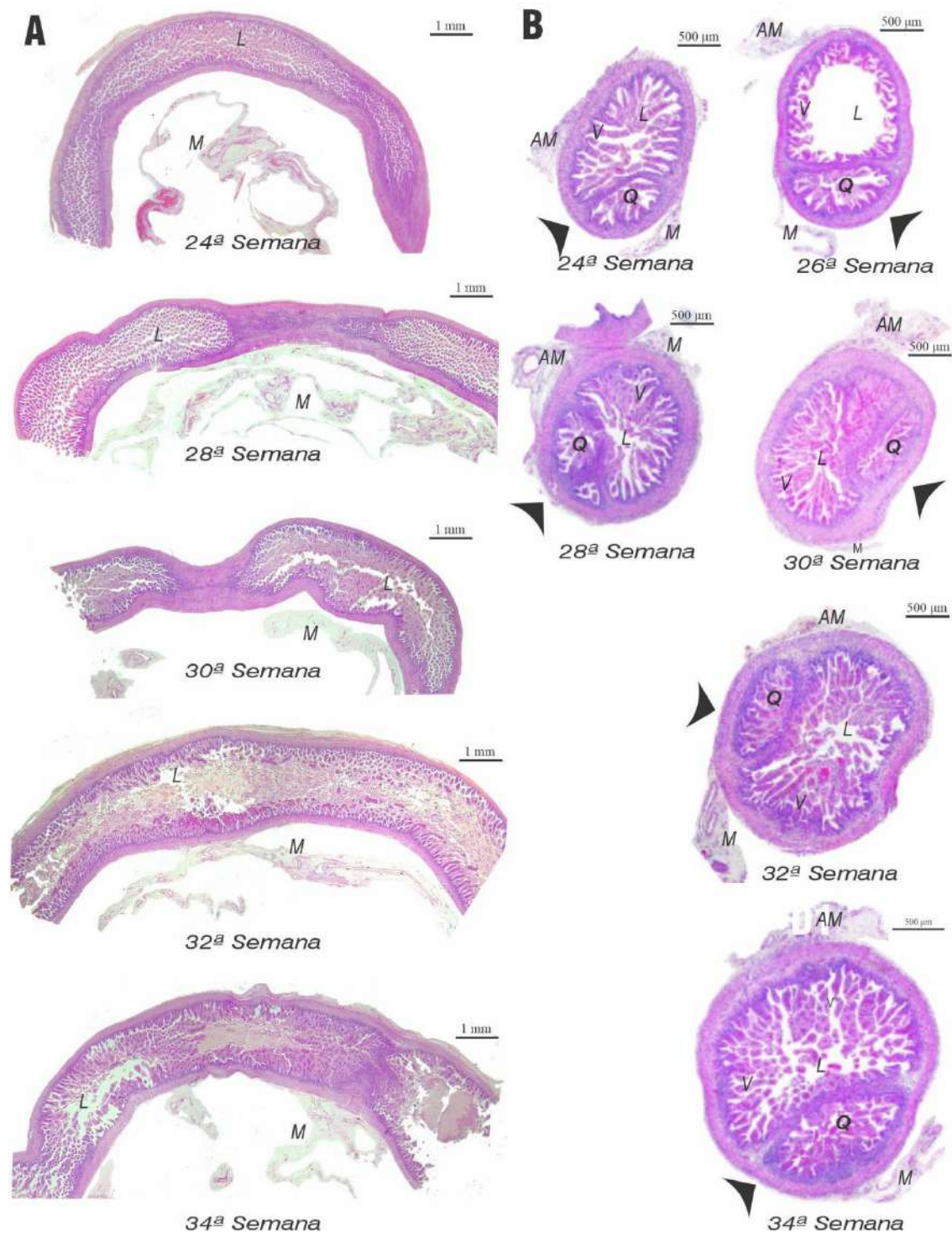


Figura 15. Ontogenia de las estructuras de las placas de Peyer del íleon de la alpaca, durante el segundo tercio de gestación (Histología). A, corte longitudinal de la porción proximal del íleon (HE). B, corte transversal de la porción distal del íleon (HE), las flechas señalan la cavidad crateriforme. AM, pliegue antimesenterial; M, mesenterio; L, Lumen; V, vellosidades intestinales; Q, cavidad crateriforme.

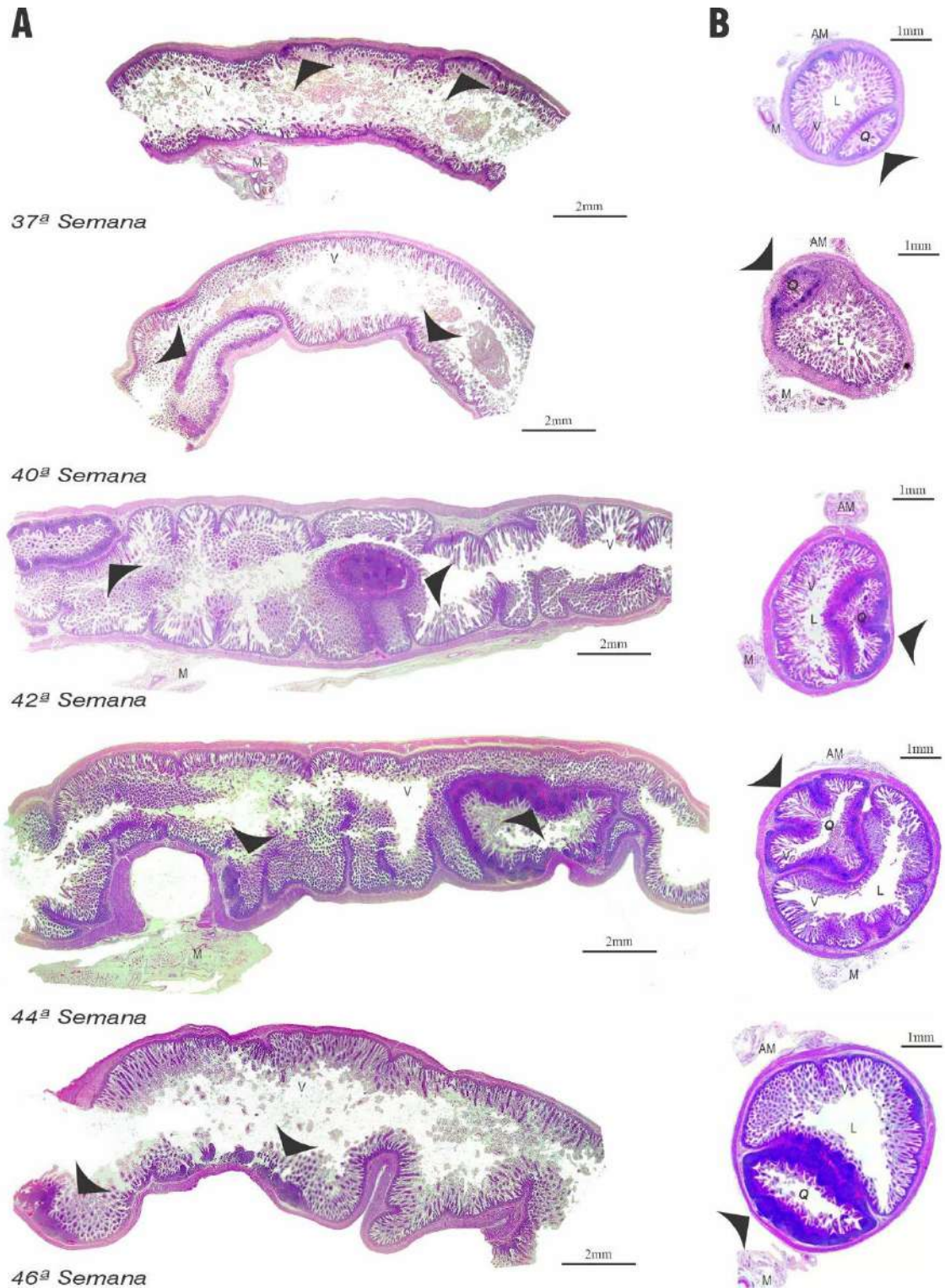


Figura 16. Ontogenia de las estructuras de las placas de Peyer del íleon de la alpaca, durante el tercer tercio de gestación (Histología). A, corte longitudinal de la porción proximal del íleon (HE), las flechas señalan las placas de Peyer dentro de estructuras de copa. B, corte transversal de la porción distal del íleon (HE), las flechas señalan placas de Peyer dentro de la cavidad crateriforme. AM, pliegue antimesenterial; M, mesenterio; L, lumen; V, vellosidades intestinales; P, pliegues intestinales; Q, vavidad crateriforme.

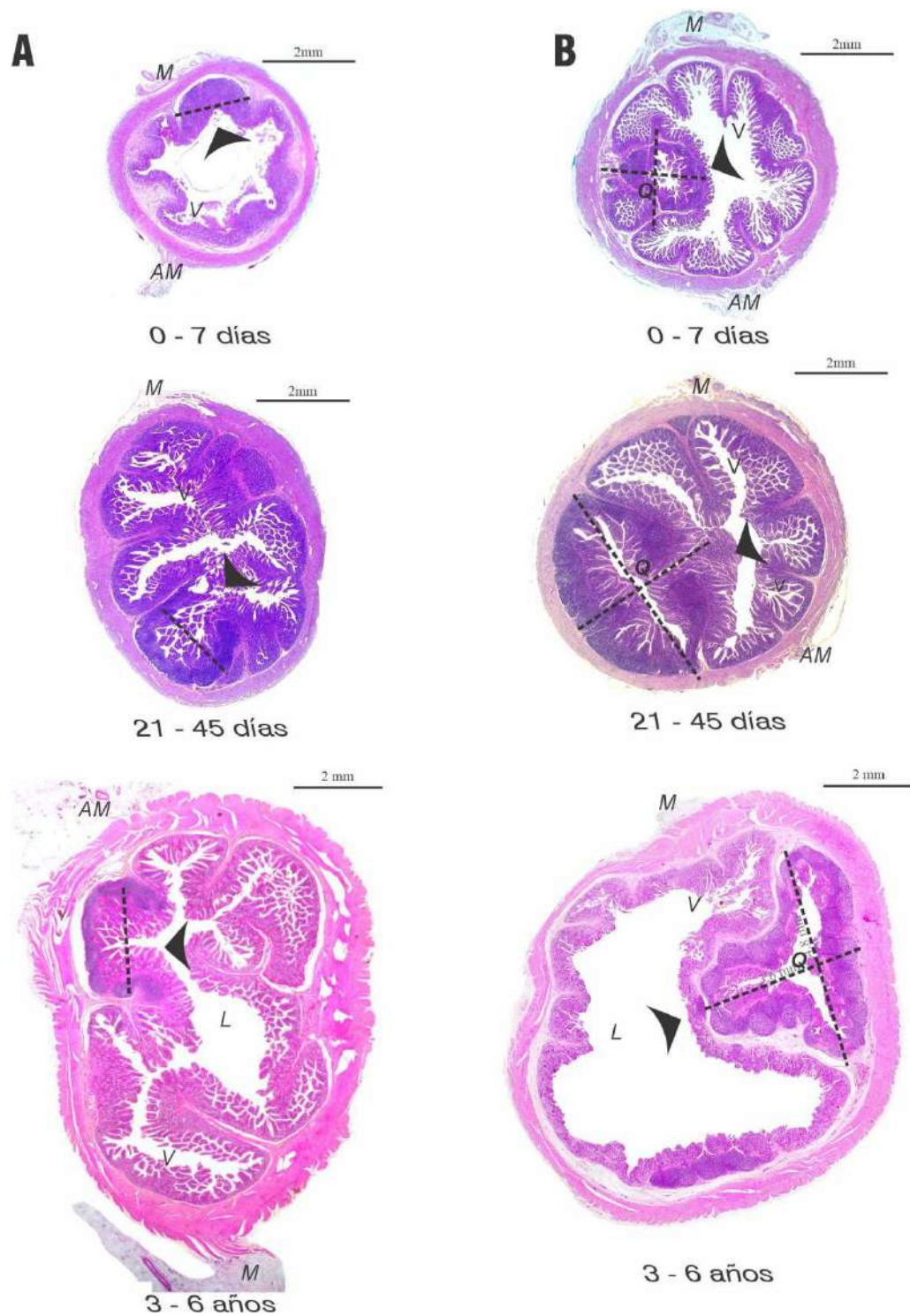


Figura 17. Ontogenia de las estructuras de las placas de Peyer del íleon de la alpaca, en crías y adultos (Histología). A, corte transversal de la porción proximal del íleon (HE), las flechas señalan las estructuras de copa. B, corte transversal de la porción distal del íleon (HE), las flechas señalan la cavidad crateriforme. AM, pliegue antimesenterial; M, mesenterio; L, lumen; V, vellosidades intestinales; P, pliegues intestinales; Q, cavidad crateriforme.

4.3. Ontogenia de los compartimentos de las placas de Peyer del íleon de la alpaca

Las células de morfología linfoide, conformaron en gran medida el tejido linfoide de las PP del íleon de la alpaca; la distribución de éstas, conllevó a la formación de compartimentos específicos como: el FAE, el SED, el FA y el IFA. La ontogenia del tejido linfoide de PP fue progresiva con respecto a la edad de los especímenes estudiados e incluyó eventos que pasaron por la formación de esbozos, la organización en compartimentos, hasta aspectos de atrofia. Los puntos de examinación referenciales para observar estos eventos, en la porción proximal del íleon fue la estructura de copa y en la porción distal la cavidad crateriforme. A continuación, se describen cada uno de los eventos, en orden de aparición cronológica y en relación al tipo de PP del íleon.

4.3.1. Área folicular

4.3.1.1. Ontogenia de las células de morfología linfoide

En la etapa prenatal, durante el primer tercio de gestación, el tejido conjuntivo del complejo lámina propia-submucosa tanto en la porción proximal del íleon como de la cavidad crateriforme; de acuerdo a la forma de sus núcleos se observaron células de morfología no linfoide de núcleo irregular y de núcleo fusiforme, por otro lado, se observaron también células de morfología linfoide.

A la 9.^a semana de gestación, las células de morfología no linfoide, se apreciaron en cantidades moderadas y se distribuyeron de manera aleatoria en el complejo lámina propia-submucosa (Figura 18A, 18A1 y 18A2). A partir de la 11.^a semana, con la aparición de las evaginaciones, las células de núcleo irregular, se desplazaron hacia la parte apical de las evaginaciones, y se agruparon en pequeños grupos de 10 a 12 células aproximadamente (Figura 18B1 y 18B2); mientras que, las células de núcleo fusiforme, se establecieron indistintamente en el tejido conjuntivo de la mucosa y submucosa (Figura 18B1).

A la 20.^a semana de gestación, además del incremento de la población de las células no linfoides, se observó por primera vez células de morfología linfoide; estas se caracterizaron por ser de mediano a pequeño tamaño, de núcleo redondeado, densamente basófilo y escaso citoplasma (Figura 18C2), se distribuyeron de manera errática en el conjuntivo del complejo lámina propia-submucosa de la porción proximal del íleon y la cavidad crateriforme (Figura 18C y 18C1). Posteriormente, a partir de la 26.^a semana, las células de morfología linfoide

incrementaron en volumen notoriamente y se distribuyeron difusa e irregularmente; no obstante, en ciertas regiones de la cavidad crateriforme se las encontró en mayor densidad, pero aún no se observó la formación de grupos (Figura 19A, 19A1 y 19A2).

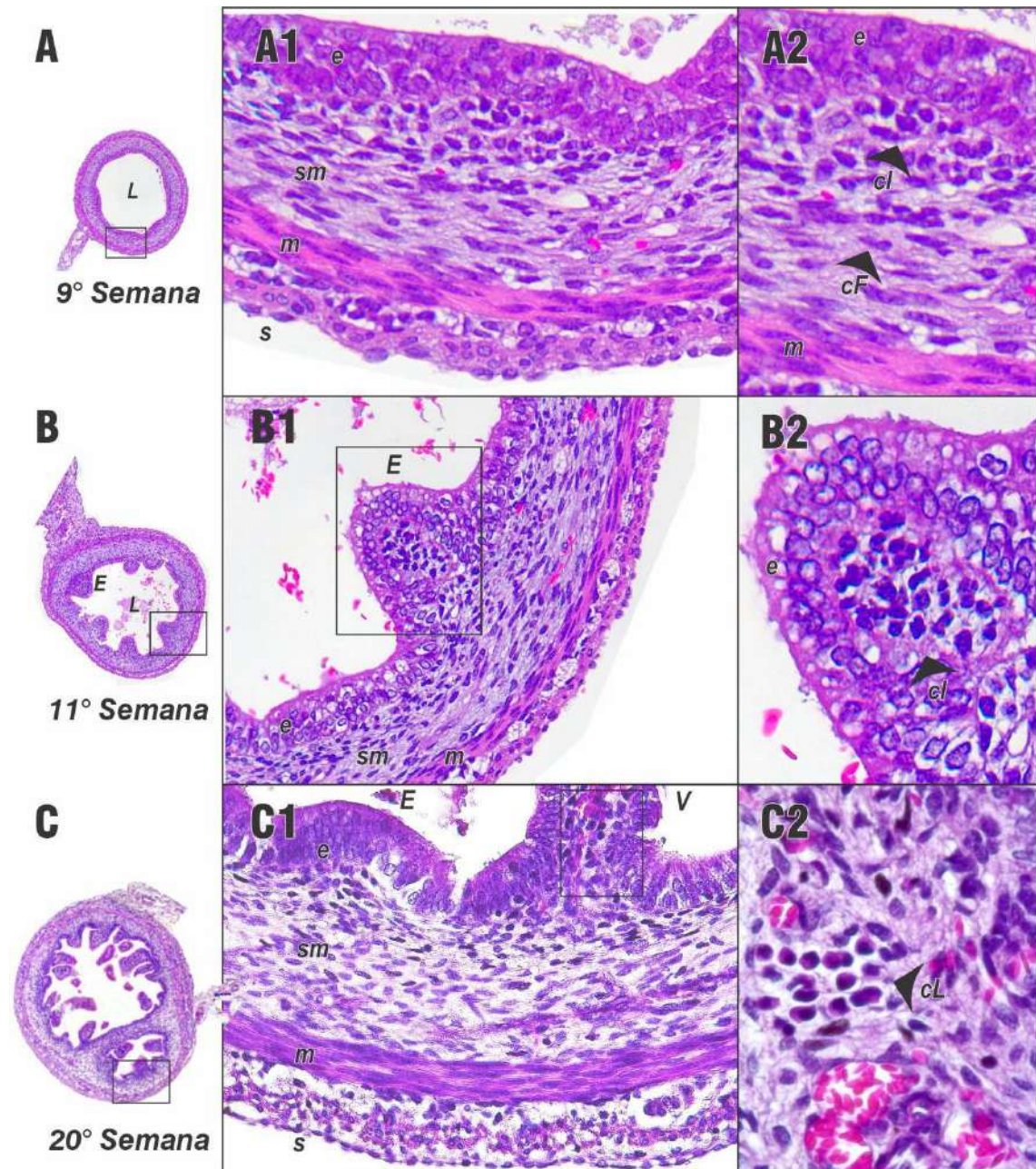


Figura 18. Ontogenia de las poblaciones celulares de la submucosa del íleon de la alpaca, en las primeras semanas de gestación (Histología). Primera fila: feto de 9.^a semana de gestación; A, corte transversal del íleon; A1 y A2, células de la submucosa del íleon (HE 40x). Segunda fila: feto de 11.^a semana de gestación; B, corte transversal del íleon. B1 y B2, células de la submucosa y de las evaginaciones del íleon (HE40x). Tercera fila: feto de 20.^a semana de gestación; C, corte transversal del íleon; C1 y C2, células de la submucosa del íleon (HE 40x). AM, pliegue antimesenterial; M, mesenterio; L, Lumen; V, vellosidades intestinales; E, evaginación intestinal, Q, cavidad crateriforme de placa de Peyer; e, epitelio; sm, submucosa; m, muscular; s, serosa; cI, células de núcleo irregular; cF, células de núcleo fusiforme; cL, células de morfología linfóide.

4.3.1.2. Formación de los folículos linfoides

En la etapa prenatal, durante el segundo tercio de gestación, a la 28.^a semana, se apreció el primer primordio de folículo linfoide solitario; presentó forma de circular cuyo diámetro midió 31 μm , estuvo conformado principalmente por células de morfología linfoide, pero en cantidad exigua y se ubicó en el complejo lámina propia-submucosa de la cavidad crateriforme (Figura 19B, 19B1 y 19B2). Por otro lado, en la porción proximal del íleon, a ésta edad, no se evidenció esbozos de estas estructuras folículares, si bien, la presencia de células linfoides fue más abundante que en las semanas precedentes (19C, 19C1 y 19C2). A la 34.^a semana, que correspondió la última semana del segundo tercio de gestación, se apreció dos folículos linfoides contiguos, si bien, tenían mayor cantidad de células de morfología linfoide, estos sólo fueron esbozos primigenios (Figura 20A, 20A1 y 20A2).

En fetos del tercer tercio de gestación; a la 37.^a semana, en la porción proximal del íleon, se observó 3 folículos linfoides en la estructura de copa y en la porción distal se apreciaron 5 folículos linfoides en la cavidad crateriforme; en promedio el diámetro de los folículos fue de 87.20 μm y $89.0 \pm 8.22 \mu\text{m}$ respectivamente (Cuadro 4); aunque los folículos linfoides continuaron siendo primigenios, con todo, este evento fue la primera evidencia de tejido linfoide propio de PP en el íleon de la alpaca (Figura 20B, 20B1 y 16A).

Entre la 40.^a a la 44.^a semana de gestación, el incremento de la población de células de morfología linfoide fue notoriamente acelerado, y esto también aumentó la cantidad de folículos linfoides; especialmente en las PP de tipo conos-crateriformes que registró entre 15 y 22 folículos linfoides respectivamente, mientras que, en las PP de tipo copa, se registró entre 12 y 16 folículos respectivamente; si bien, los folículos no evidenciaron desarrollo completo, no obstante, este evento marcó el inicio para la formación de los esbozos del IFA y el SED (Figuras 20C, 20C1, 20C2 y 21B, 21B1 y 21B2). En estas semanas fetales, el tamaño de los folículos linfoides incrementó en casi el doble, así en las PP de tipo copa, se registró valores de diámetro de $92.20 \pm 11.10 \mu\text{m}$ y $169.20 \pm 19.98 \mu\text{m}$ respectivamente y en las PP de tipo conos-crateriformes el diámetro fue de $97.60 \pm 18.06 \mu\text{m}$ y $173.20 \pm 18.90 \mu\text{m}$; sin observarse diferencia significativa ($p < 0.05$) en relación al tipo de PP (Cuadro 4).

A la 46.^a semana de gestación, que correspondió a fetos próximos a nacer, se observó folículos linfoides con desarrollo completo en los dos tipos de PP del íleon, con todo, estos se clasificaron como folículos linfoides primarios; las formas de estos fueron circulares y ovaladas, presentaron mayor densidad de población celular y los bordes estuvieron rodeados por una

delgada capa de tejido conjuntivo que la delimitó de los demás compartimentos (Figura 21C, 21C1 y 21C2). A mayor aumento, los folículos linfoides se observó principalmente la morfología de las células de los folículos linfoides, correspondió en gran proporción a células de morfología linfoide, éstas presentaron intensa actividad mitótica; también se apreciaron células de morfología estrellada, de núcleo grande y con heterocromatina en el citoplasma (Figura 21B3 y 21C3).

En fetos de la última semana gestacional, ambos tipos de PP, se evidenciaron incremento notorio en el tamaño de los folículos linfoides respecto a las semanas precedentes, el diámetro de los folículos en las PP de tipo copa fue de $345.60 \pm 24.88 \mu\text{m}$ y en las PP de tipo conos-crateriformes fue de $349.60 \pm 88.93 \mu\text{m}$; aún esto, no se observó diferencia significativa ($p < 0.05$) de tamaño en relación al tipo de PP del íleon (Cuadro 4). Con respecto a la cantidad de folículos linfoides, las PP de tipo copa registró 19 PP y las PP de tipo conos-crateriformes registraron 28 folículos (Cuadro 4), debido a esta condición, la disposición de los folículos linfoides en este tipo de PP fue densa, llegándose a observar hasta dos filas de folículos (Figura 21C2).

4.3.1.3. Formación del centro germinal

En la etapa neonatal, el incremento del tamaño de los folículos linfoides ocurrió de manera progresiva y fue notorio con respecto a la edad de los especímenes evaluados. En las PP de tipo copa, en crías menores de una semana, el diámetro de los folículos en promedio fue $341.00 \pm 88.63 \mu\text{m}$ y entre la 3.^a y 6.^a semana incrementó a $364.20 \pm 39.68 \mu\text{m}$; mientras que, en las PP de tipo conos-crateriformes en crías de una semana se registró $352.00 \pm 59.01 \mu\text{m}$ y en crías de 3.^a y 6.^a semana alcanzó $367.20 \pm 48.30 \mu\text{m}$; sin embargo, no hubo diferencia significativa ($p < 0.05$) en cuanto al tamaño de los folículos con relación al tipo de PP del íleon (Cuadro 4). En cuanto a la cantidad de folículos linfoides, se observó diferencia significativa ($p < 0.05$) a favor de las PP de tipo conos-crateriformes (Cuadro 4).

En ambos tipos de PP del íleon, la formación de los GC se observó de manera parcial desde la primera semana de vida; estos se ubicaron usualmente en la parte basal de los folículos linfoides dando la apariencia de un área clara; por otra parte, las zonas tenuemente pobladas de los folículos linfoides, sólo fue observado en algunos especímenes (Figura 22A1, y 22A2). Sin embargo, en crías de la 3.^a y 6.^a semana, los GC estuvieron presentes en casi todos los folículos linfoides, con los mismos rasgos morfológicos observados en el grupo precedente (Figura 22B1 y 22B2). A mayor aumento los GC estuvieron conformados principalmente por células de morfología linfoide, de tamaño grande y citoplasma acidófilo, y células de morfología estrellada, de núcleo grande con heterocromatina y citoplasma pálido (Figura 22A3 y 22B3).

En especímenes adultos, se registró el mayor promedio de tamaño para folículos linfoides, así en las PP de tipo copa el diámetro de los folículos registrado fue $366.10 \pm 64.27 \mu\text{m}$ y en las PP de tipo conos-crateriformes fue $376.30 \pm 62.29 \mu\text{m}$; con todo, no hubo diferencia significativa ($p < 0.05$) para tamaño de folículos linfoides con relación al tipo de PP del íleon (Cuadro 4). Empero, con respecto a la cantidad de folículos linfoides en las PP de tipo copa se registró la cantidad de 22 ± 3.66 folículos, mientras que, en las PP de tipo conos-crateriformes la cantidad registrada fue de 27 ± 4.95 , observándose diferencia significativa ($p < 0.05$) para cantidad de folículos, a favor de las PP de tipo conos-crateriformes en comparación a las PP de tipo copa (Cuadro 4), debido a estos valores, el tejido linfoide en las PP de tipo conos-crateriformes fue más denso (Figura 23B1).

El GC estuvo presente en casi todos los folículos linfoides de ambas PP del íleon de las alpacas adultas, las características morfológicas de los GC fueron similares al grupo etario precedente; por otra parte, los folículos linfoides secundarios ya constituidos, presentaron las siguientes sub áreas como: la zona densamente poblada, la zona tenuemente poblada y la corona folicular en casi todos los especímenes examinados (Figura 23A1, 23B1 y 23C1). A la examinación panorámica del íleon, acompañando a las PP del íleon, se observó folículos linfoides solitarios, a manera de satélites, confirmando que el íleon presenta alta densidad de tejido linfoide en la zona (Figura 23B).

4.3.1.4. Atrofia de los folículos linfoides

En adultos, si bien, las estructuras de ambas PP del íleon y el tejido linfoide alojado en su interior, mantuvieron en gran medida el patrón morfológico observado desde fetos próximos al nacimiento; sin embargo, en uno de los 10 espécimenes adultos examinados, se observó algunos folículos linfoides atípicos, que presentaron una extensa área clara, lo cual es compatible a posibles estados de atrofia; aunque los folículos linfoides no presentaron disminución en el tamaño y área folicular, se evidenció marcada disminución en la población de células de morfología linfoide (Figura 23C y 23C1). La población de morfología linfoide fue reemplazada principalmente por células de morfología estrellada, así como algunas células mononucleares de citoplasma grande; en el interior del área folicular, se observó tejido conjuntivo que contenía abundante matriz conjuntiva (Figura 23C2).

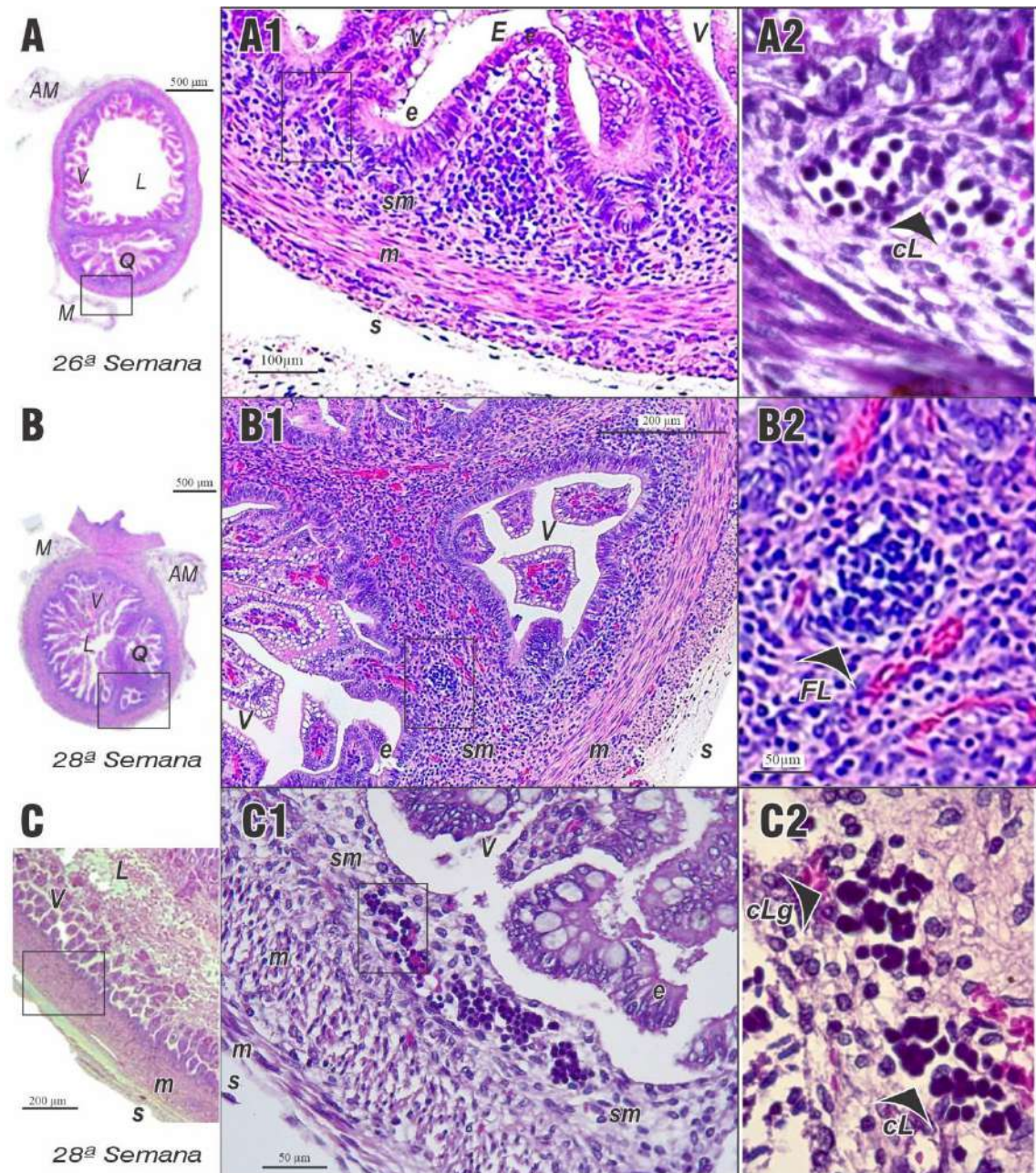


Figura 19. Ontogenia del área folicular de las placas de Peyer del íleon de la alpaca, durante la etapa fetal (Histología). Primera fila: feto de 26.^a semana de gestación; A, corte transversal del íleon. A1 y A2, células de morfología linfoide en la submucosa (HE 10x y 40x). Segunda fila: feto de 28.^a semana de gestación; B, corte transversal del íleon. B1 y B2, esbozo de folículo linfoide solitario en cavidad crateriforme (HE 10x y 40x). Tercera fila: feto de 28.^a semana de gestación C, corte longitudinal del íleon. C1 y C2, células linfoides agrupadas en la submucosa del íleon (HE 10x, 63x). AM, pliegue antimesenterial; M, mesenterio; L, Lumen; V, vellosidades intestinales; E, evaginación intestinal, Q, cavidad crateriforme de placa de Peyer; e, epitelio; sm, submucosa; m, muscular; s, serosa; eFL, esbozo de folículo linfoide solitario; cL, células de morfología linfoide; cLg, células de morfología linfoide de tamaño grande.

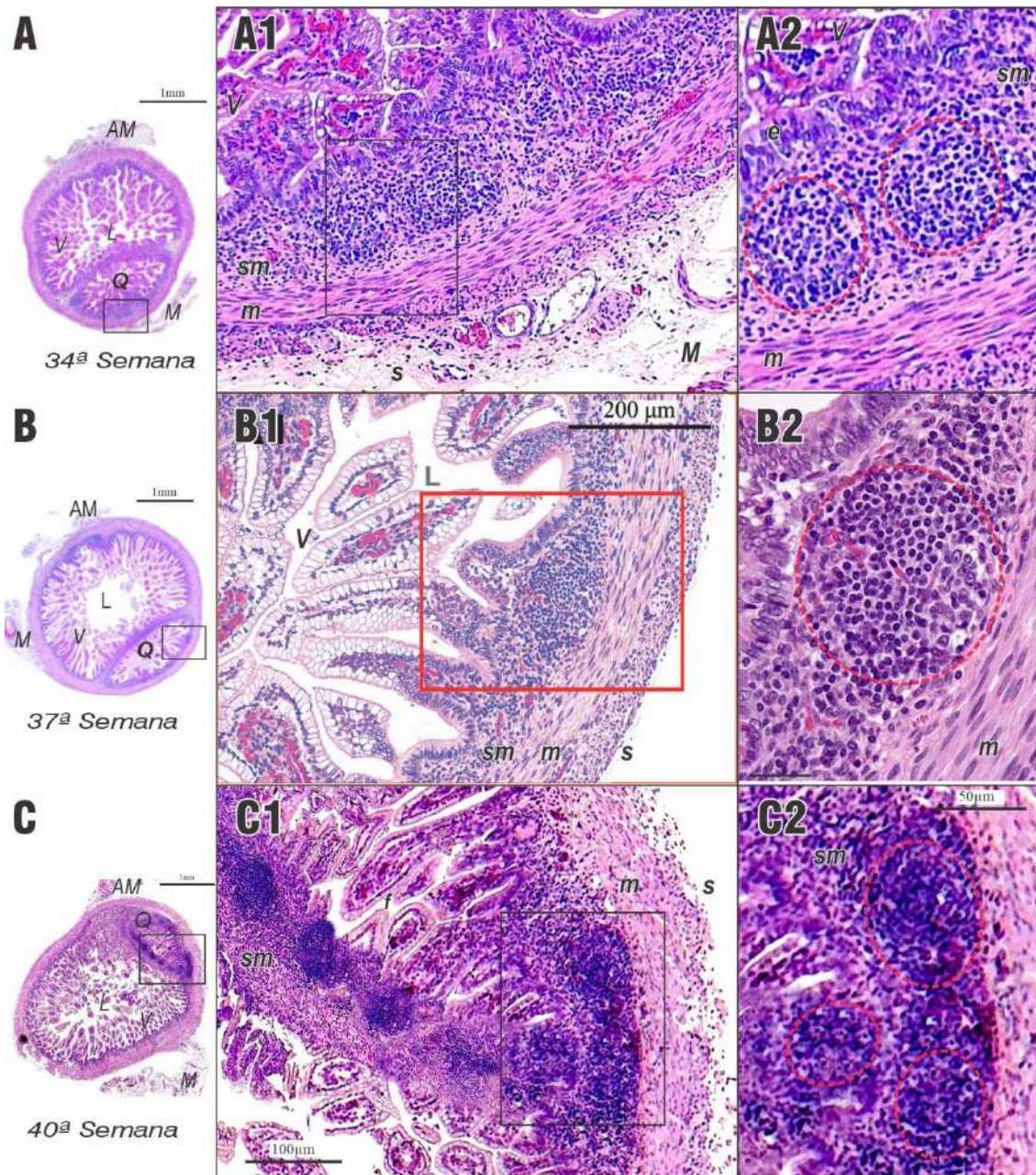


Figura 20. Ontogenia del área folicular y demás compartimentos de las placas de Peyer del íleon de la alpaca, durante la etapa fetal (Histología). Primera fila: feto de 34.^a semana de gestación; A, corte transversal del íleon; A1 y A2, folículos linfoides continuos en la cavidad crateriforme (HE 10x, 40x). Segunda fila: feto de 37.^a semana de gestación; B, corte transversal del íleon; B1 y B2, folículo linfoide solitario en la cavidad crateriforme (HE 10x, 40x). Tercera fila: feto de 40.^a semana de gestación; C, corte transversal del íleon; C1 y C2, GALT de placa de Peyer en la submucosa del íleon (HE 10x, 40x). AM, pliegue antimesenterial; M, mesenterio; L, Lumen; V, vellosidades intestinales; Q, cavidad crateriforme de placa de Peyer; e, epitelio; sm, submucosa; m, muscular; s, serosa; eFL, esbozo de folículo linfoide; FL, folículos linfoides.

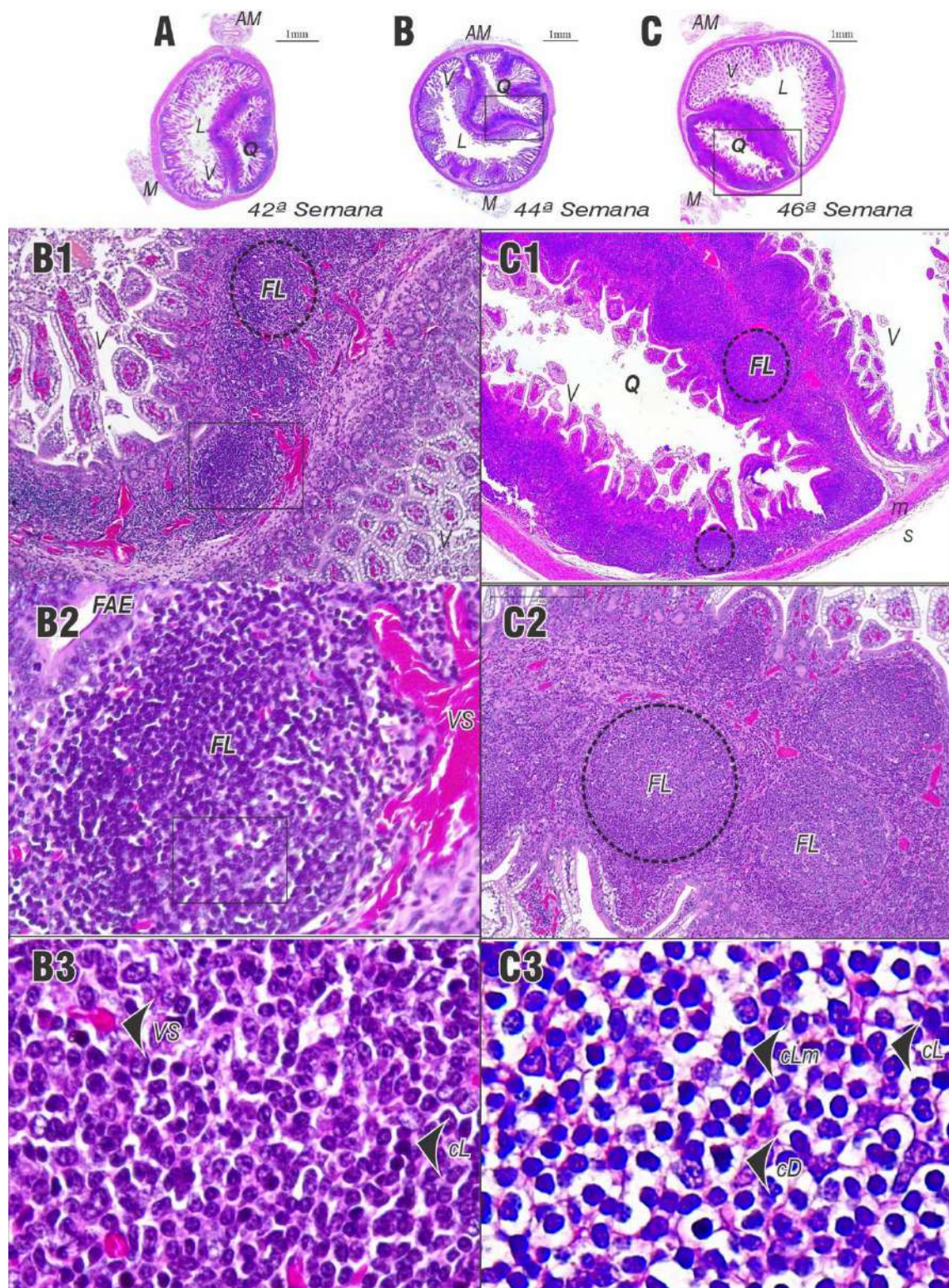


Figura 21. Ontogenia de las placas de Peyer del íleon de la alpaca, en fetos próximos al nacimiento (Histología). Columna izquierda: feto de 44.^a semana de gestación; B, corte transversal del íleon; B1, placa de Peyer de tipo conos-crateriformes (HE 4x); B2, folículo linfoide (HE 40x); B3, células de folículo linfoide (HE). Columna derecha: feto de 46.^a semana; C1, vista panorámica del GALT de placa de Peyer de tipo conos-crateriformes (HE 4x); C2, placa de Peyer de tipo conos-crateriformes (HE 10x); C3, células de folículo linfoide (HE). Q, cavidad crateriforme; e, epitelio; sm, submucosa; m, muscular; s, serosa; FL, folículo linfoide; cL, célula de morfología linfoide; cLm, célula de morfología linfoide en mitosis; cE, célula de morfología estrellada.

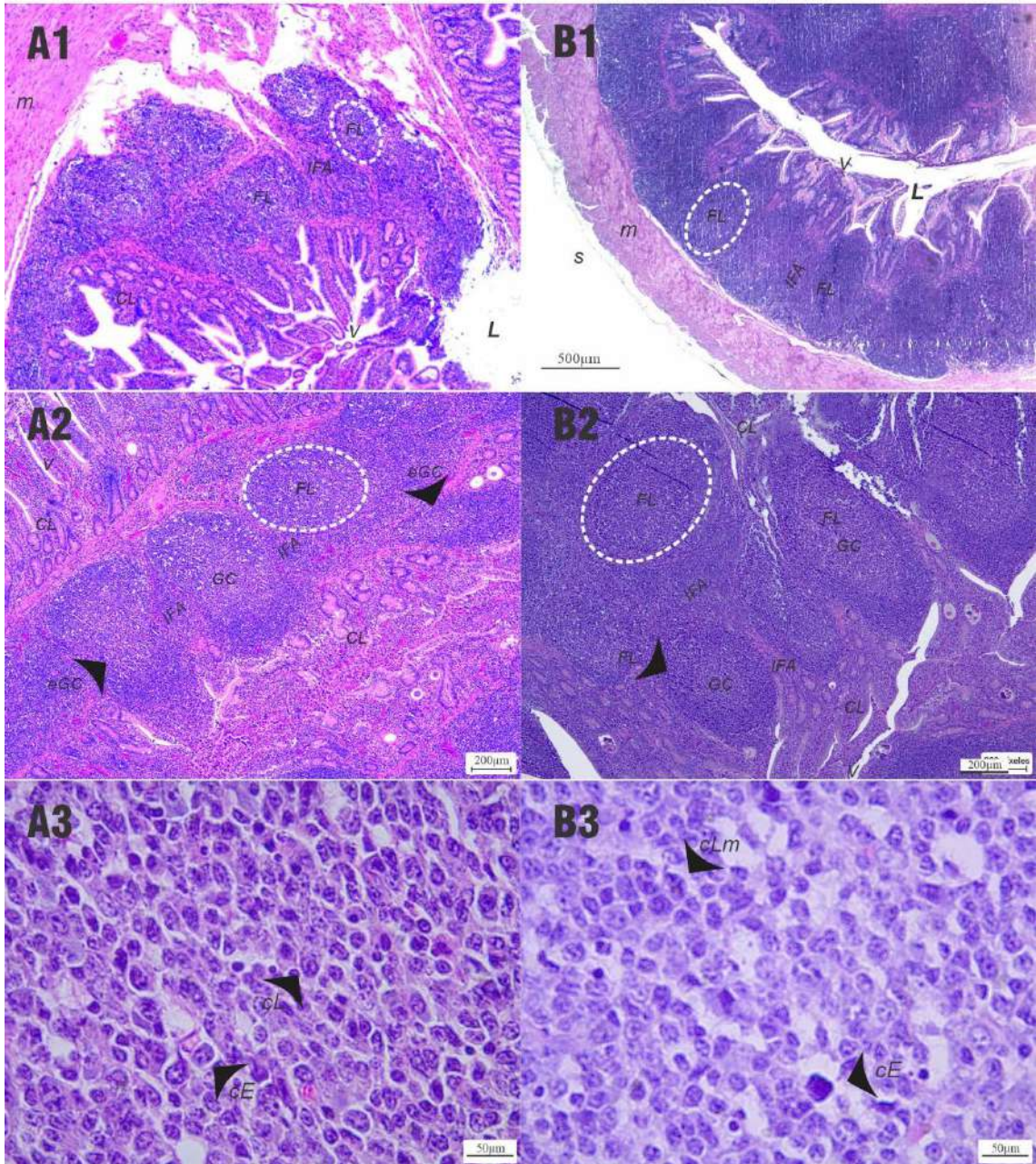


Figura 22. Ontogenia de las placas de Peyer del íleon de la alpaca, durante la etapa neonatal (Histología). A, Vista panorámica de las PP en corte transversal del íleon de cría de 7 días. A1, A2 y A3, acercamiento a compartimentos y folículo linfoide (HE 4x, 10x y 63x). B, Vista panorámica de las PP en corte transversal del íleon de cría de 42 días. B1, B2 y B3, acercamiento a compartimentos y folículo linfoide (HE 4x, 10x y 63x). Q, cavidad crateriforme; e, epitelio; sm, submucosa; m, muscular; s, serosa; FL, folículo linfoide; cL, célula de morfología linfoide; cLm, célula de morfología linfoide en mitosis; cE, célula de morfología estrellada.

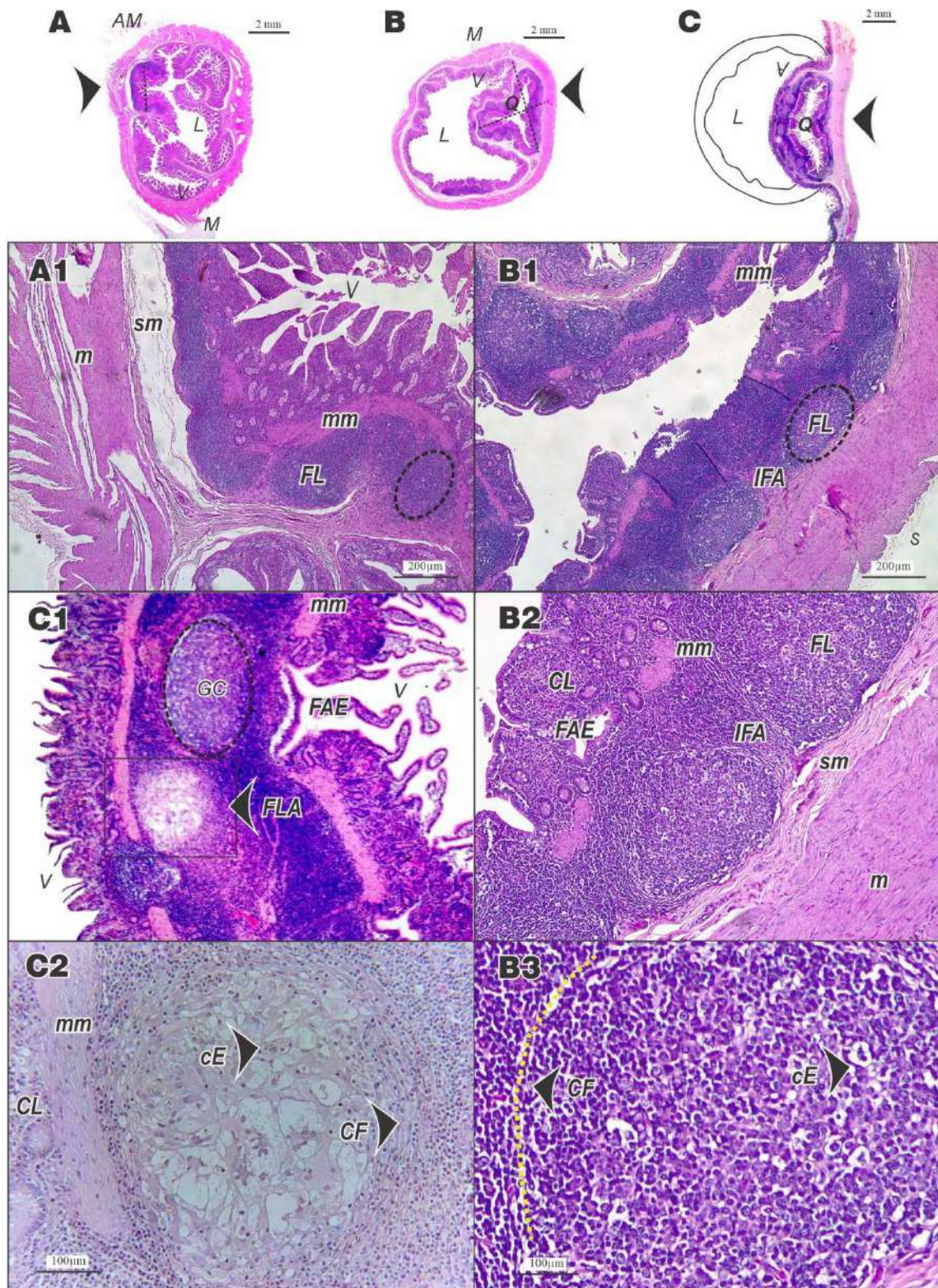


Figura 23. Ontogenia de las placas de Peyer del íleon de la alpaca, durante la etapa adulta (Histología). A, A1, placa de Peyer tipo copa (HE 4x). B, B1, placa de Peyer tipo cono-crateriforme (HE 4x). B2, compartimentos de placa de Peyer (HE 10x). B3, células de folículo linfoide (HE 40x). C, C1, placa de Peyer tipo cono-crateriforme (HE 10x). C2, células de folículo linfoide (HE 40x). V, vellosidades intestinales; Q, cavidad crateriforme de placa de Peyer; e, epitelio; sm, submucosa; m, muscular; s, serosa; FL, folículo linfoide; FLA, folículo linfoide atípico; CF, corona folicular; cL, célula de morfología linfoide; cLm, célula de morfología linfoide en mitosis; cE, célula de morfología estrellada.

Cuadro 4. Histología ontogénica de las placas de Peyer del íleon de la alpaca

Edad	placas Peyer de tipo copa				placas Peyer de tipo conos-crateriformes					
	long. (mm)	Folículos		DO	Cavidad crateriforme			Folículos		DO
		Cant. (und)	Diam. (μm)		Diam. max (mm)	Diam. min (mm)	Diam. prom (mm)	Cant. (und)	Diam. (μm)	
F1 (n=7)										
9.4	NO	0	NO	-	NO	NO	NO	0	NO	-
11.0	NO	0	NO	-	NO	NO	NO	0	NO	-
14.5	NO	0	NO	-	0.097	0.031	0.064	0	NO	-
16.5	NO	0	NO	-	0.460	0.210	0.335	0	NO	-
18.0	NO	0	NO	-	0.510	0.280	0.395	0	NO	-
19.7	NO	0	NO	-	0.560	0.329	0.445	0	NO	-
21.5	NO	0	NO	-	0.513	0.350	0.432	0	NO	-
F2 (n=6)										
24.2	NO	0	NO	-	0.784	0.368	0.576	0	NO	-
26.6	NO	0	NO	-	1.196	0.565	0.881	0	NO	-
28.8	NO	0	NO	-	1.108	0.422	0.765	1	31.00	-
30.0	NO	1	43.00	-	1.480	0.812	1.146	1	44.00	-
32.1	NO	1	59.00	+	1.200	0.578	0.889	1	60.00	-
34.2	NO	2	71.50	+	1.610	0.832	1.221	2	75.50	+
F3 (n=12)										
37.6	NO	3	87.20	+	1.690	0.920	1.305	5	89.00 ±8.22	+
39.8	1.400	12	92.20 ^a ±11.10	+	1.865	0.810	1.338	15	97.60 ^a ±18.06	+
42.4	1.905	14	157.60 ^a ±8.17	++	2.870	1.600	2.235	18	168.00 ^a ±12.55	++
44.4	2.700	16	169.20 ^a ±19.98	++	3.022	2.526	2.774	22	173.60 ^a ±18.90	++
45.6	2.985	19	345.60 ^a ±24.88	+++	3.560	2.380	2.970	28	349.60 ^a ±88.93	+++
C (n=10)										
C0 prom (mm)	3.93 ¹ ±1.04	20.50 ^{1a} ±4.75	341.00 ^a ±88.63	+++	5.29 ±1.23	2.57 ±0.70	4.38 ² ±0.56	30.75 ^{1b} ±2.54	352.00 ^a ±59.01	+++
C3 prom (mm)	7.160 ¹ ±0.64	23.10 ^{1a} ±3.55	364.20 ^a ±39.68	+++	10.27 ±1.14	4.76 ±0.69	7.52 ¹ ±0.69	29.15 ^{1b} ±5.01	367.20 ^a ±48.30	+++
A (n=10)										
prom (mm)	38.50 ¹ ±4.10	22 ^{1a} ±3.66	366.00 ^a ±64.27	+++	36.70 ±5.90	48.3 ±7.27	42.50 ² ±5.80	27 ^{1b} ±4.95	376.00 ^a ±62.69	+++

^{1,2; a,b; 1a,1b,} superíndices diferentes dentro de columnas indican diferencia significativa ($p < 0.05$)

F1, F2, F3, fetos de primer, segundo y tercer tercio de gestación respectivamente. C, crías. C0, menores de 7 días de nacidas. C3, crías entre 21 – 45 días de vida. A, especímenes adultos entre 3 - 6 años. Sem, semanas de desarrollo fetal. long, longitud. F, cantidad de folículos linfoides. GC, centro germinal. DO, desarrollo ontogénico. min, valor mínimo observado. max, valor máximo observado. prom, promedio. DS, desviación estándar. NO, No observado. Niveles de formación y desarrollo ontogénico: (-), *sin desarrollo*. (+), *desarrollo escaso*. (++) , *desarrollo medio*. (+++) , *desarrollo completo*.

4.3.2. Área interfolicular

El desarrollo ontogénico del IFA, estuvo estrechamente relacionado a la ontogenia del área folicular; el IFA correspondió al área comprendida entre los folículos linfoides, estuvo conformado principalmente por células de morfología linfoide, la disposición de las células de morfología linfoide en el IFA, varió con respecto a la ubicación de los folículos dentro de la estructura de copa o la cavidad crateriforme.

En la etapa prenatal, a la 37.^a semana de gestación, cuando los folículos linfoides aparecieron en forma de esbozos; el área que rodeó los folículos linfoides, constó de tejido conjuntivo moderadamente vascularizado y con escasas células de morfología linfoide (Figura 24A y 24B). Entre la 40.^a a la 44.^a semana de gestación, con el incremento en cantidad de los folículos linfoides y el mayor desarrollo de estos, el IFA fue reconocible en ambos tipos de PP, aunque continuaron siendo áreas primigenias (Figura 24C y 24D).

A la 46.^a semana, cuando los folículos linfoides presentaron desarrollo completo, el patrón morfológico del IFA fue específico para cada tipo de PP del íleon; en las PP de tipo copa, abarcó las áreas laterales a los folículos linfoides, debido a la distribución lineal de estos; mientras que, en las PP de tipo conos-crateriformes, además de las áreas laterales abarcó también el área superior e inferior a los folículos linfoides, debido a que estos se encontraban distribuidos más densamente (Figura 24E).

En la etapa postnatal, en especímenes crías y adultos, si bien incrementó el tamaño de las PP, el patrón de desarrollo del IFA en ambos tipos de PP continuó siendo el mismo (Figura 25A, 25A1, 25B y 25B1). En el espécimen adulto, que presentó atrofia de algunos folículos linfoides, el AIF, no presentó cambios morfológicos considerables, aunque la densidad de la población de células de morfología linfoide se observó considerablemente densa (Figura 23C1 y 23C2).

En todo el proceso ontogénico, el IFA estuvo sostenido por tejido conjuntivo, en el que, la proporción de matriz, células y fibras fueron similares, en las primeras semanas de gestación; en especímenes crías y adultos, las fibras colágenas tendieron a engrosar y se ubicaron en la parte basal del IFA (Figura 24C). En todo el proceso ontogénico, la vascularización del IFA fue especialmente notorio, en muchos especímenes se observó venas y arterias de mediano a grueso calibre, así como vénulas de endotelio alto, principalmente en las etapas de desarrollo acelerado de las PP, que correspondió a las últimas semanas de gestación y especímenes crías (Figura 25A2 y 25B2).

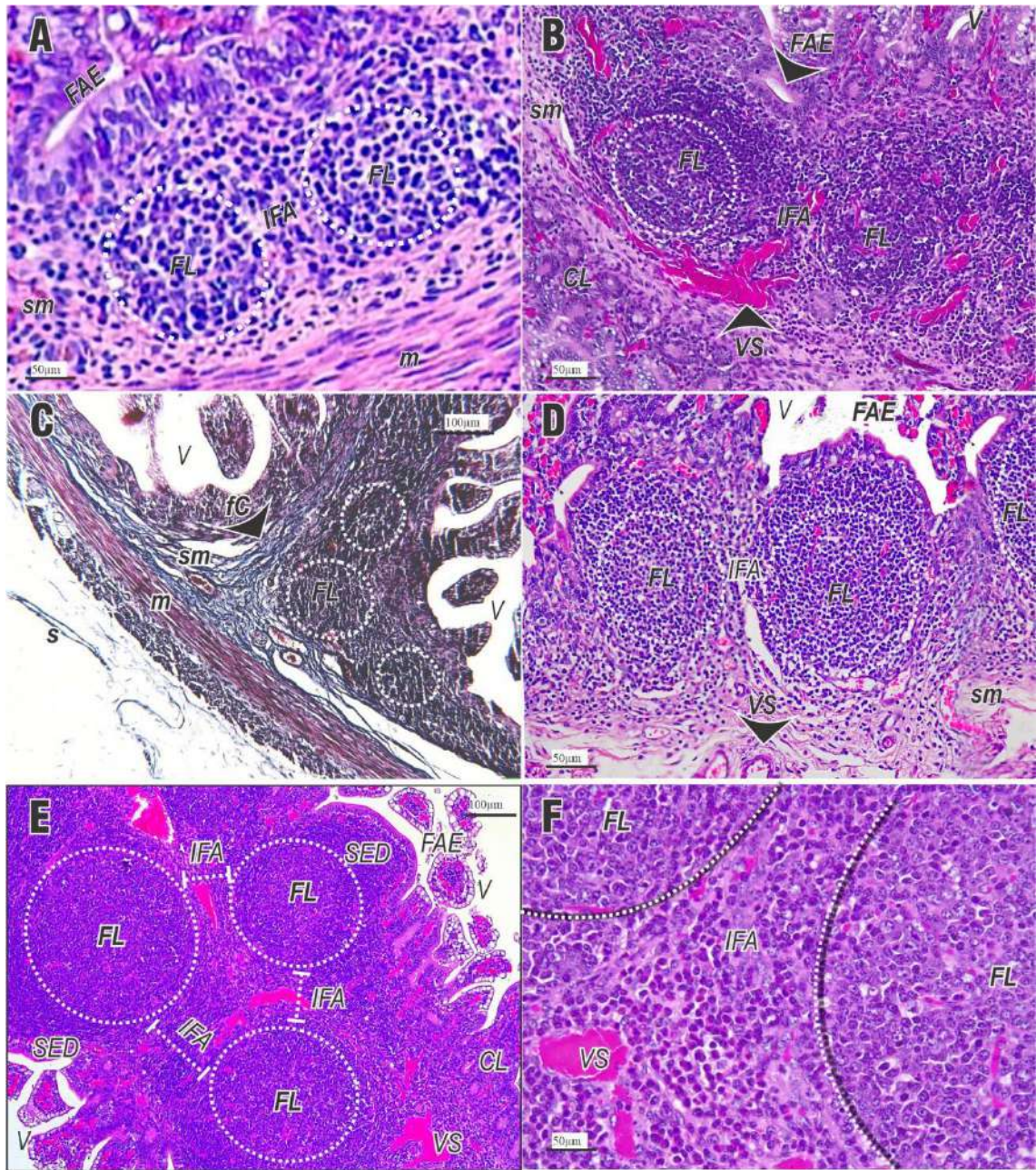


Figura 24. Ontogenia de los compartimentos de las placas de Peyer del íleon en alpaca, durante la etapa prenatal (Histología). A, Feto de 34.^a semana de gestación (HE 40x). B, Feto de 40.^a semana de gestación (HE 10x). C, Feto de 42.^a semana de gestación (Tricrómico de Masson, 10x). D, Feto de 42.^a semana de gestación (HE 10x). E y F Feto de 46.^a semana de gestación (HE, 10x, 40x). V, vellosidades intestinales; CL, criptas de Lieberkühn; FAE, epitelio asociado a folículo; SED, domo subepitelial; FL, folículo linfoide; IFA, área interfolicular; sm, submucosa; m, muscular; s, serosa; vs, vasos sanguíneos; fc, fibras conjuntivas colagenas.

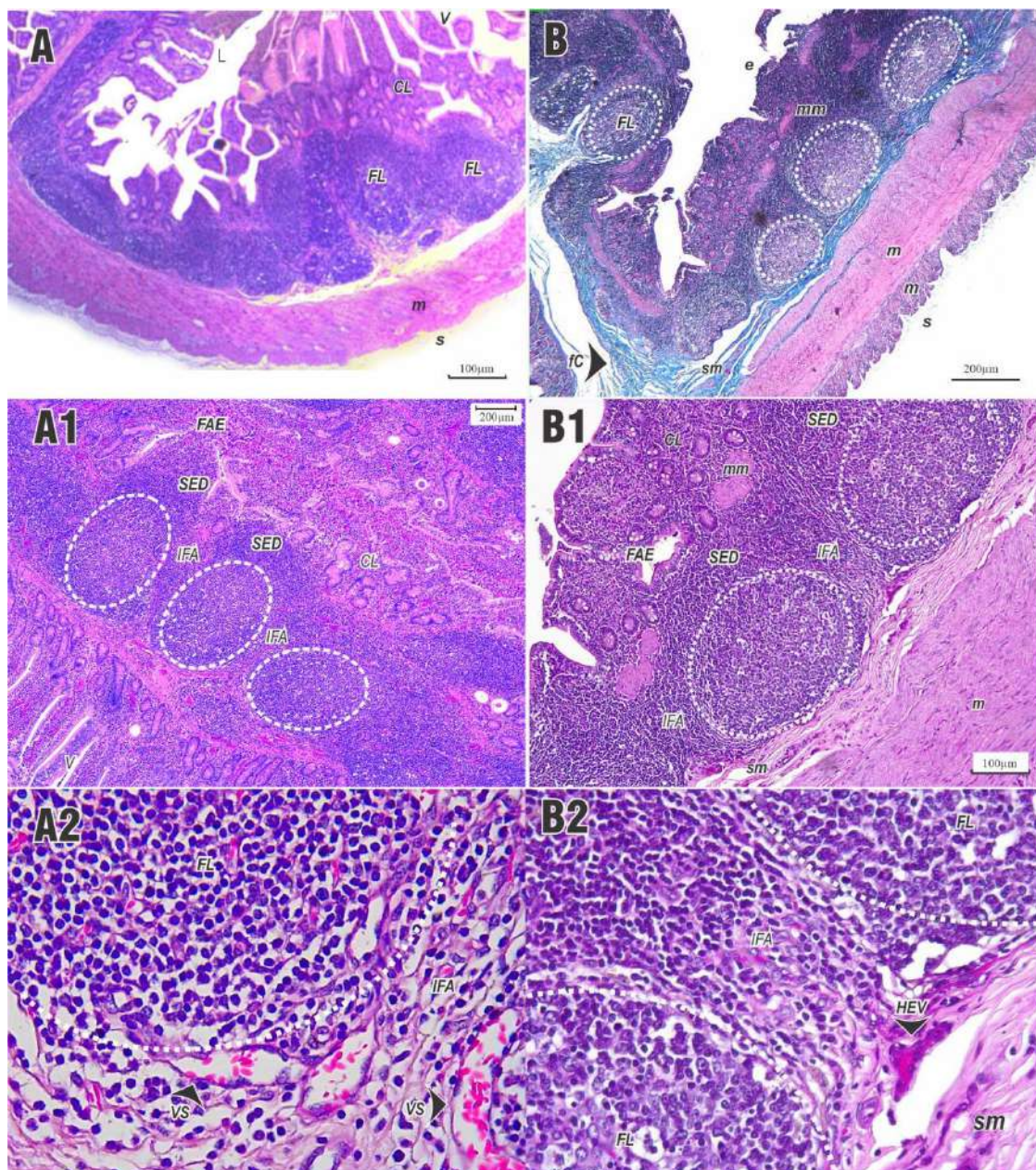


Figura 25. Ontogenia de los compartimentos de placas de las Peyer del íleon de la alpaca, durante la etapa postnatal (Histología). Columna izquierda: espécimen cría de 21 días; A, placa de Peyer tipo cono-crateriforme (HE 4x); A1, compartimentos de placa de Peyer (HE, 10x). A2, área interfollicular (HE 40x). Columna derecha: espécimen adulto; B, placa de Peyer tipo cono-crateriforme (TM 4x); B1, compartimentos de placa de Peyer (HE, 10x); B2, área interfollicular (HE 40x). V, vellosidades intestinales; CL, criptas de Lieberkühn; FAE, epitelio asociado a folículo; SED, domo subepitelial; FL, folículo linfoide; IFA, área interfollicular; sm, submucosa; mm, muscular de la mucosa; m, muscular; s, serosa; vs, vasos sanguíneos; fc, fibras conjuntivas colagenas.

4.3.3. Domo sub epitelial

El desarrollo ontogénico del SED, estuvo condicionado al desarrollo de los demás compartimentos de las PP del íleon de la alpaca; el SED comprendió el área entre el FAE y la parte apical de los folículos linfoides. En la etapa prenatal, entre la 34.^a a la 37.^a semana de gestación, con la aparición de esbozos de los folículos linfoides, esta área estuvo poblada por escasas células de morfología linfóide distribuidas erráticamente (Figuras 26A y 26B); a partir de la 40.^a semana, con incremento de la población celular, el SED presentó la apariencia de áreas con mayor coloración basófila, respecto a los demás compartimentos de PP, debido a que las células de morfología linfóide se distribuyeron difusamente (Figuras 26C y 26D).

A la 46.^a semana de gestación, cuando ambos tipos de PP alcanzaron desarrollo completo, el SED comprendió un área claramente demarcada y densamente poblada; la población celular en esta área, en proporción fue muchas veces mayor a la población celular en los folículos linfoides (Figuras 26E y 26F). El SED proyectó formas en la mucosa del íleon a través del epitelio asociado a folículo, generando en el lumen formas: circulares, convexas, de vellosidades cortas y gruesas, triangulares o aplanadas (Figuras 26 y 27).

En la etapa postnatal, en especímenes crías y adultos, con excepción del incremento en el tamaño de las PP, el patrón morfológico del SED, fue similar a lo observado en fetos de final de la gestación (Figura 27); sin embargo, las protuberancias de los domos, en muchas ocasiones se encontraron eclipsadas por las vellosidades intestinales, así como de las criptas de Lieberkühn, principalmente estas últimas se encontraron en elevada cantidad, por lo que, el SED estuvo relacionado al lumen de las criptas de Lieberkühn (Figuras 24E, y 25E).

En la etapa prenatal, a la 34.^a semana de gestación, el examen panorámico de barrido, en general mostró que la mucosa tanto en la porción proximal del íleon, como en la cavidad crateriforme, estuvo tapizada por abundantes vellosidades intestinales, entre las cuales también se observó numerosas criptas de Lieberkühn; sin embargo, a la examinación de barrido minuciosa, entre las vellosidades intestinales, se evidenció algunos domos solitarios, los que, aunque también presentarían formas de vellosidades, estos fueron mucho más cortos y gruesos (Figura 28A, 28A1 y 29C). A la 44.^a semana, aunque los domos fueron aún escasos y primigenios, éstos destacaron por poseer formas atípicas; en las PP de tipo copa, se asemejaron a vellosidades cortas y gruesas, así como formas de pirámides delgadas y embrolladas (Figura 28B); mientras que, en las PP de tipo conos-crateriformes, los domos adoptaron formas de vellosidades aplanadas cortas y gruesas (Figura 28C).

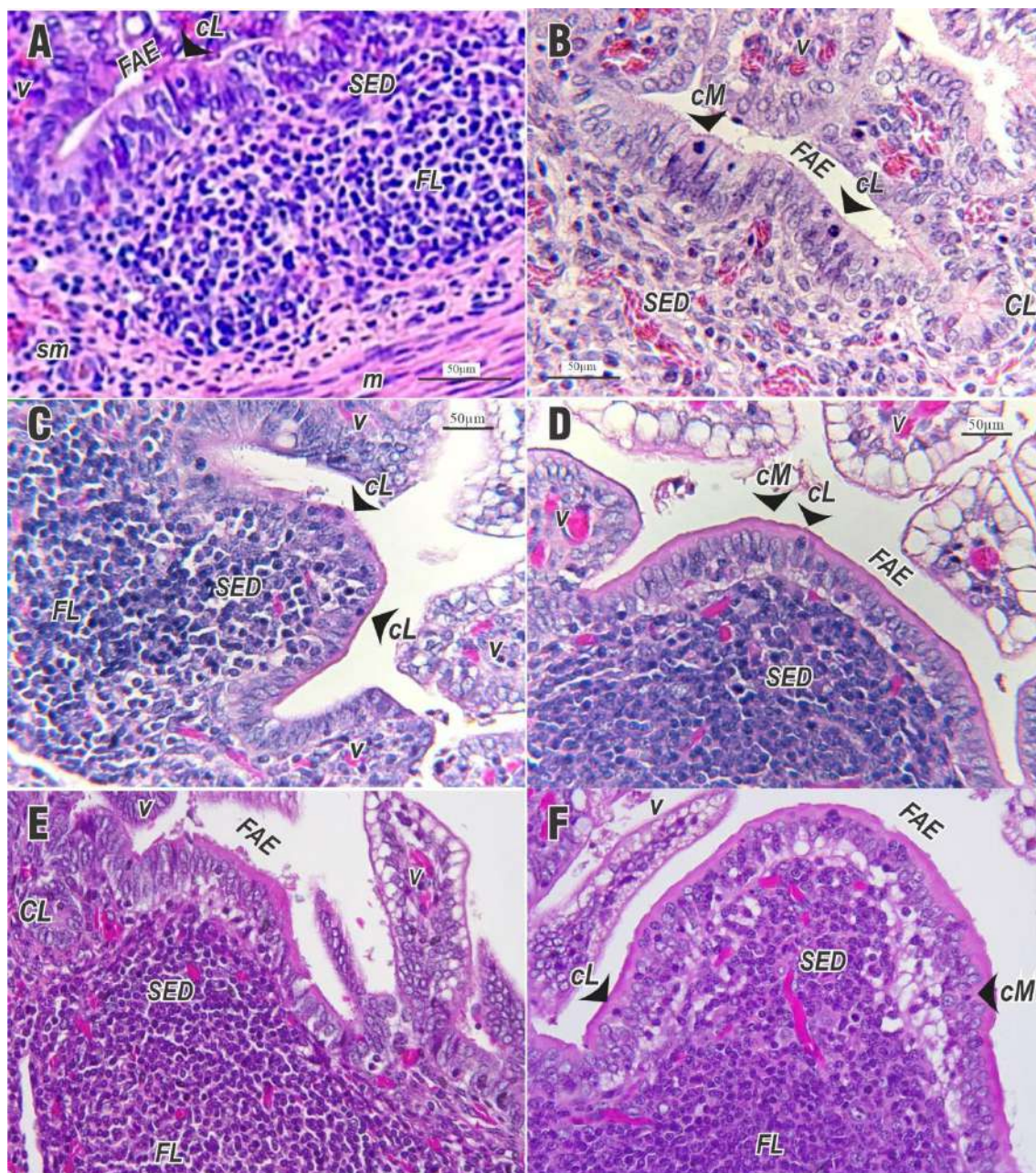


Figura 26. Ontogenia del epitelio asociado a folículo de las placas de Peyer del íleon de la alpaca, durante la etapa prenatal (Histología). A, Feto de 34.^a semana de gestación (HE 40x). B, Feto de 37.^a semana de gestación (HE 40x). C, Feto de 40.^a semana de gestación (HE 40x). D, Feto de 44.^a semana de gestación (HE 40x). E, F, Feto de 46.^a semana de gestación (HE 40x), placa de Peyer tipo copa y cono-crateriforme respectivamente. V, vellosidades intestinales; CL, criptas de Lieberkühn; FAE, epitelio asociado a folículo; SED, domo subepitelial; FL, folículo linfoide; IFA, área interfollicular; sm, submucosa; m, muscular; CL, célula de morfología linfoide; cM, célula M.

En la etapa postnatal, en especímenes adultos, al examen panorámico de barrido, los domos y las vellosidades intestinales fueron las protuberancias más importantes de la mucosa del íleon, los domos estuvieron rodeados por vellosidades angostas, de formas amuralladas o digitiformes (Figuras 28D, 28E y 28F). Las PP de tipo copa, la forma de los domos fue semejantes a piramides enroscadas, de ápices angulares y pronunciados (Figuras 30A1 y 30A2). Mientras que, las PP de tipo conos-crateriformes, presentó dos formas de domos: las primeras, fueron semejantes a piramides enroscadas, pero de ápices romos (Figuras 30B1, 30B) y las segundas fueron de forma ovoides (Figuras 30C1 y 30C2).

Los domos incrementaron en tamaño conforme avanzó la edad; en fetos de las últimas semanas de gestación el diámetro de los domos de las PP de tipo conos-crateriformes fue significativamente ($p<0.05$) mayor al de las PP de tipo copa; sin embargo, en especímenes adultos, el diámetro de las PP de tipo copa, fue significativamente mayor ($p<0.05$) al promedio en diámetro de los domos de las PP de tipo conos-crateriformes (Cuadro 4).

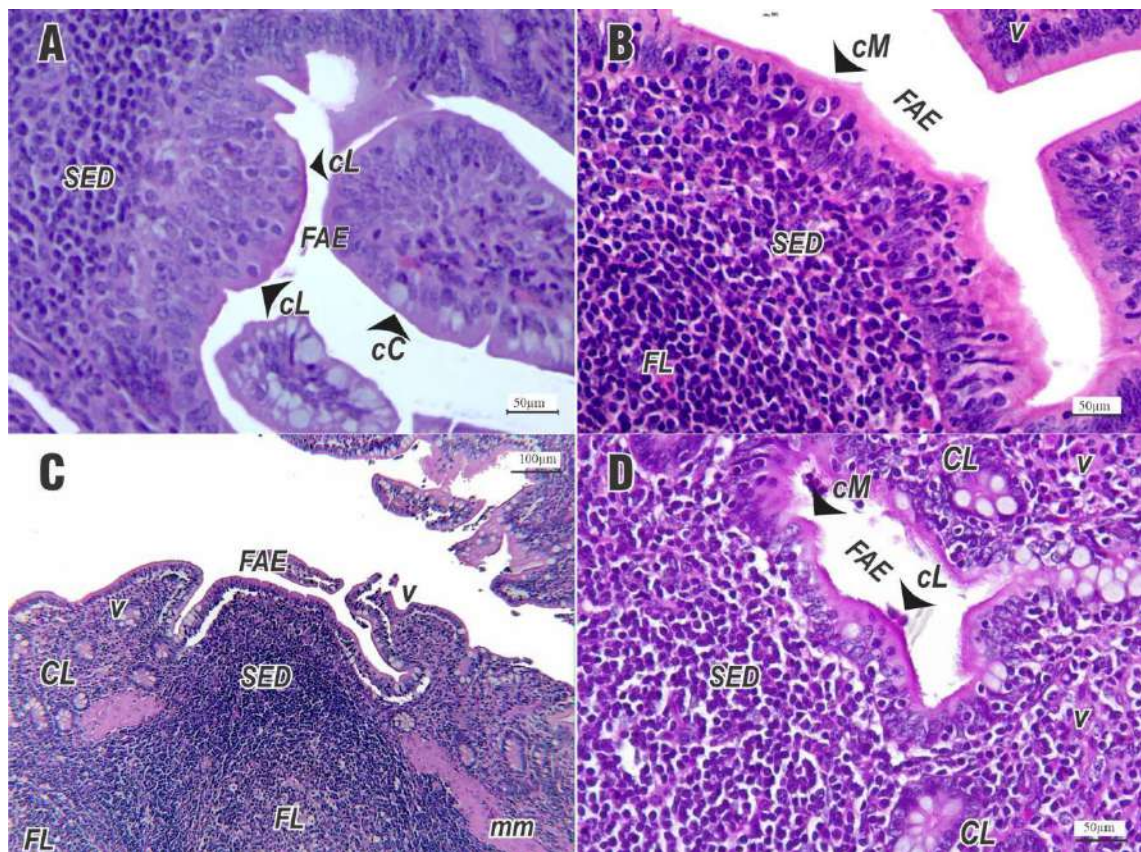


Figura 27. Ontogenia del epitelio asociado a folículos de las placas de Peyer del íleon de la alpaca, durante la etapa postnatal (Histología). A, Especímen cría de 7 días de nacido (HE 40x). B, Especímen cría de 25 días de nacido (HE 40x). C, Especímen adulto (HE 10x). D, Especímen adulto (HE 40x). V, vellosidades intestinales; CL, criptas de Lieberkühn; FAE, epitelio asociado a folículo; SED, domo subepitelial; FL, folículo linfoide; mm, muscular de la mucosa; cL, célula de morfología linfoide; cM, célula M; cC; célula caliciforme.

Cuadro 5. Ultraestructura de barrido de la ontogenia de las placas de Peyer del íleon de la alpaca

Edad (Sem)	Mucosa íleon			PP porción proximal					PP porción distal				
	V	C	m	Domos			FAE		Domos			FAE	
				Cant. (Und)	Diam. min. (µm)	Diam. max. (µm)	Cel. M (Und)	Linf. (Und)	Cant. (Und)	Diam. min. (µm)	Diam. max. (µm)	Cel. M (Und)	Linf. (Und)
F2 (n=2)													
31.8	++	+	-	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
34.0	++	+	-	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
F3 (n=4)													
36.2	+++	+	-	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
39.5	+++	+	-	1.50	28.50	31.50	-	-	2.25	29.33	30.25	-	-
43.0	+++	+	-	6.50 ^a (±0.50)	46.33 (±12.24)	56.55 ^{*a} (±7.79)	-	-	12.00 ^b (±1.70)	80.36 (±7.43)	96.43 ^{*b} (±15.15)	-	+
43.9	++++	++	+	15.00 ^a (±1.85)	61.11 (±8.33)	69.44 ^{*a} (±9.62)	-	+	12.00 ^a (±2.95)	81.43 (±9.17)	93.33 ^{*b} (±18.04)	+	+
A (n=4)													
	++++	++	+++	15.21 ^a (±2.40)	132.82 (±19.83)	170.85 ^{*a} (±34.62)	+++	++	19.50 ^b (±3.85)	116.5 (±56.4)	145.2 ^{*b} (±70.0)	+	++

ab, *a*b superíndices diferentes dentro de columnas indican diferencia significativa ($p < 0.05$)

F2, F3, fetos de segundo y tercer tercio de gestación respectivamente. A, especímenes adultos entre 3 - 6 años. Sem, semanas de desarrollo fetal. V, vellosidades intestinales; C, criptas de Lieberkühn; m, mucus de recubrimiento; PP, placas de Peyer; FAE, epitelio asociado a folículo; Cel M, células M; Linf, linfocitos asociados a epitelio; Cant, cantidad; Diam, diámetro; min, mínimo; max, máximo. Los valores numéricos se expresan en promedio y desviación estándar. Los valores cualitativos se expresan en niveles de observación: NO, No observado. (-), sin presencia. (+), escasa presencia. (++), regular presencia. (+++), alta presencia.

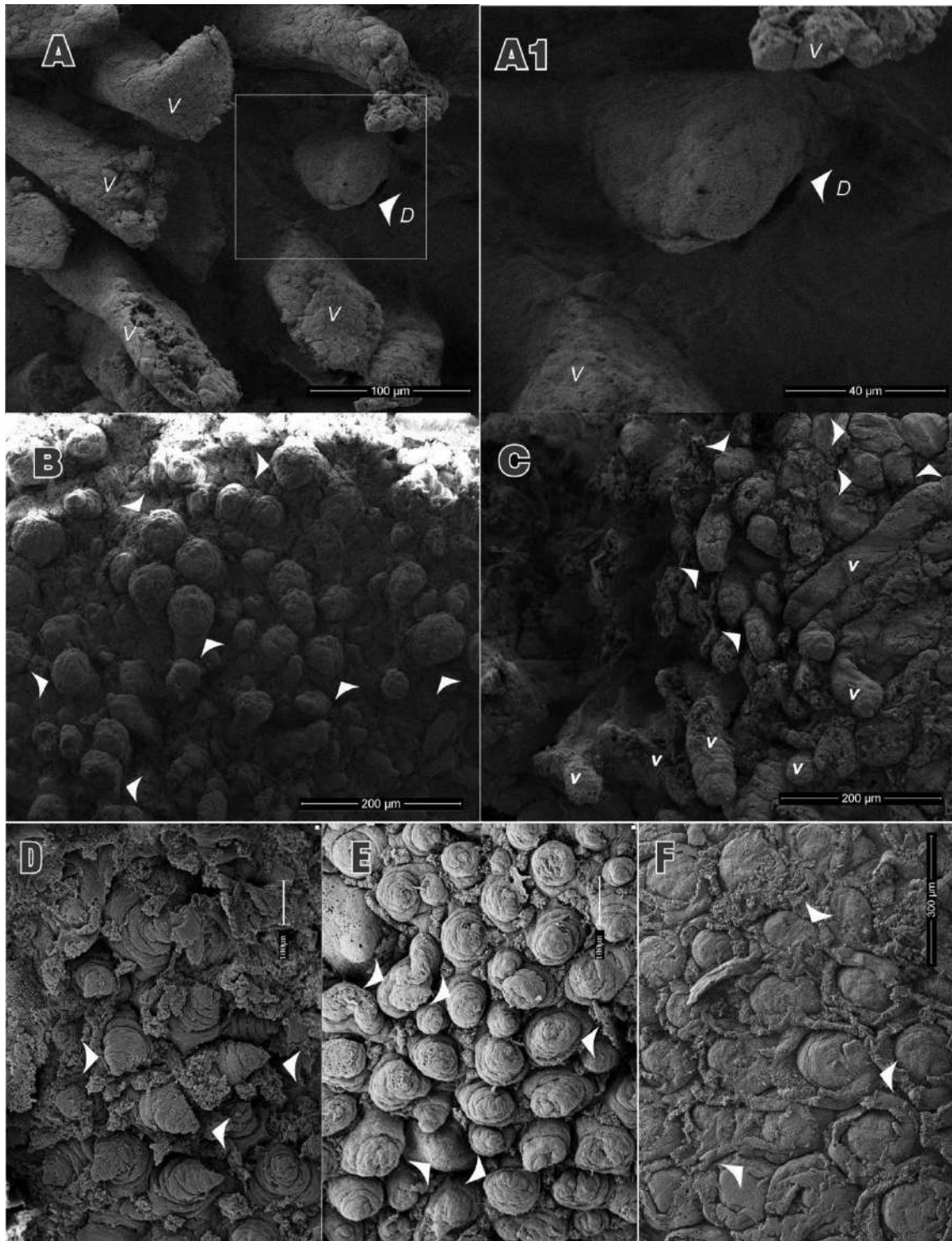


Figura 28. Ontogenia del domo subepitelial de las placas de Peyer del íleon de la alpaca (SEM). A, A1, Mucosa del íleon de feto de 34.^a semana, la flecha señala domo solitario de GALT. B, domos de placa de Peyer tipo copa de feto de 44.^a semana. C, domos de placa de Peyer tipo cono-crateriforme de feto de 44.^a semana. D, domos de placa de Peyer tipo copa de espécimen adulto. E, domos de placa de Peyer tipo cono-crateriforme de espécimen adulto. F, domos de placa de Peyer tipo cono-crateriforme de espécimen adulto, D, domos de PP; V, vellosidades

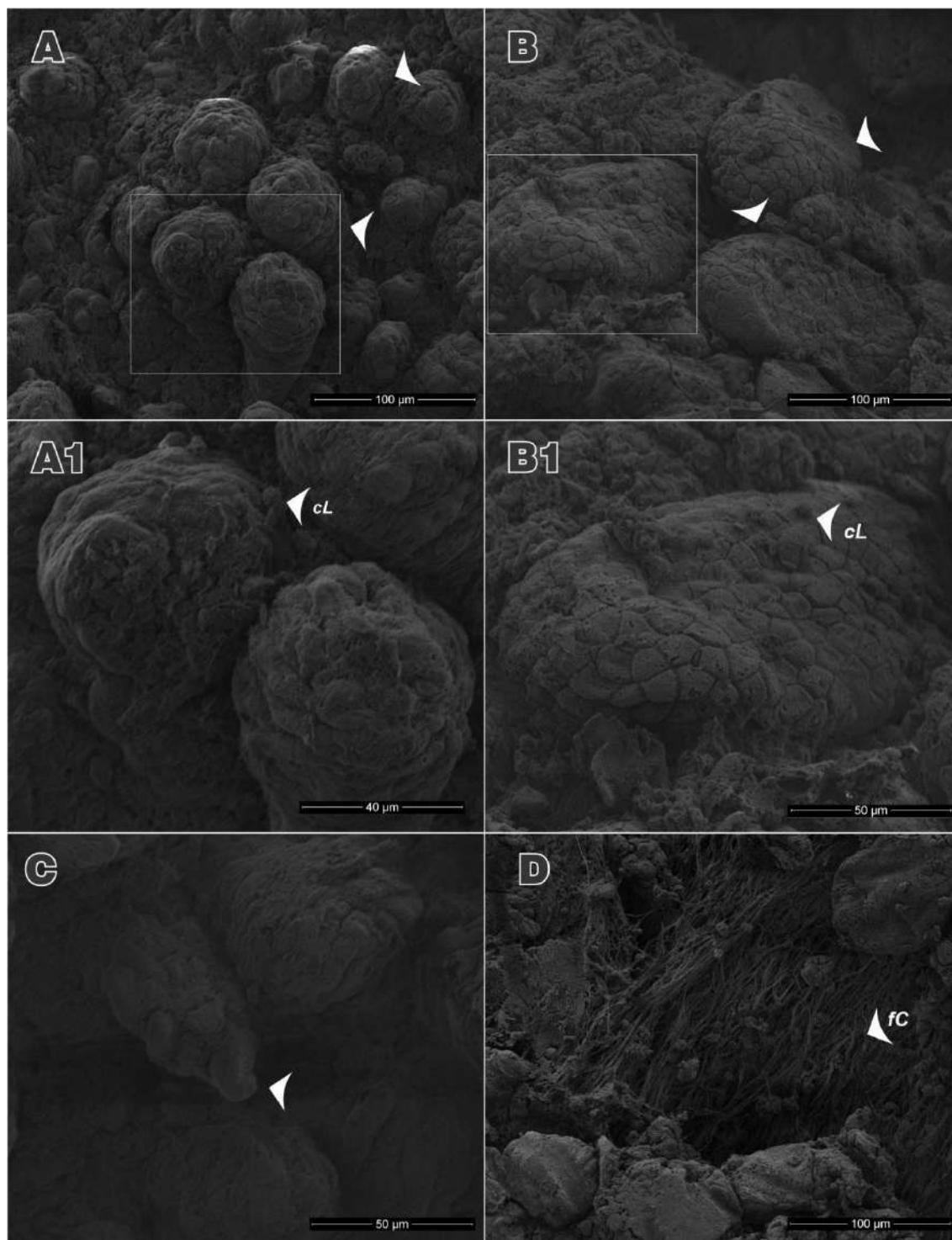


Figura 29. Ontogenia del domo subepitelial y del epitelio asociado a folículo de las placas de Peyer del íleon de la alpaca, durante la etapa prenatal (SEM). Columna izquierda: placa de Peyer tipo copa de feto de 44.^a semana de gestación; A y A1, domos de placas de Peyer. Columna derecha: placa de Peyer tipo cono-crateriforme de feto de 44.^a semana de gestación; B y B1, domos de placas de Peyer. C, domo piramidal solitario de placa de Peyer tipo copa de feto de 34.^a semana, la flecha señala la cúspide del domo. D, tejido conjuntivo de placa de Peyer. *cL*, célula de morfología linfoide; *fC*, fibras conjuntivas.

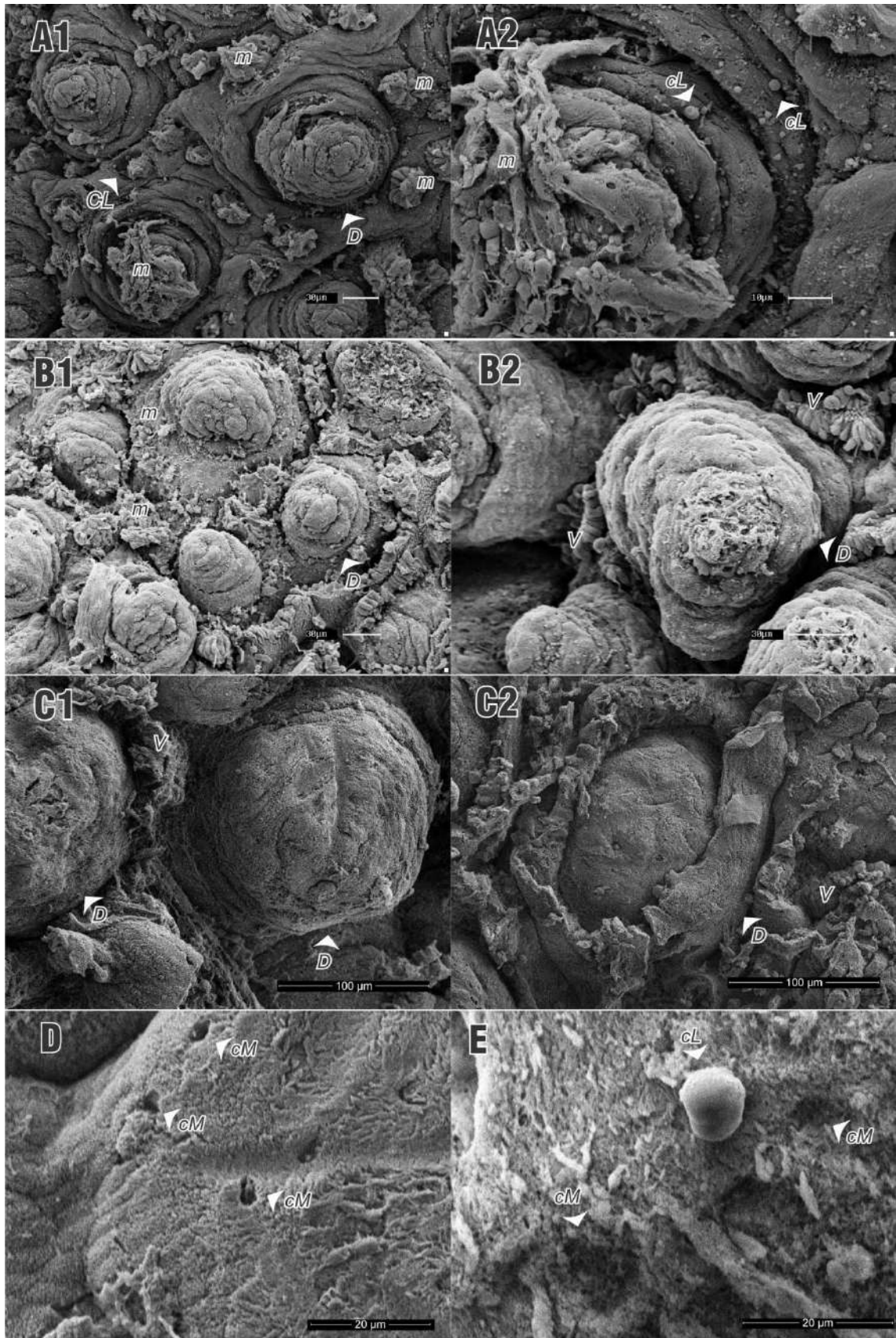


Figura 30. Ontogenia del domo subepitelial y del epitelio asociado a folículo de las placas de Peyer del íleon de la alpaca, durante la etapa adulta (SEM). Primera fila: placa de Peyer tipo copa; A1 y A2, domos piramidales de placas de Peyer. Segunda y tercera fila: placa de Peyer tipo conos-

crateriformes; B1 y B2, domos piramidales de placas de Peyer; C1 y C2, domos hemisféricos de placas de Peyer. D, células M del linfopitelio. E, linfocito asociado a célula M. *cL*, célula de morfología linfóide; *cM*, célula M.

4.3.4. Epitelio asociado a folículo

El FAE, constituyó un epitelio especializado, que separó el interior de las PP con el entorno luminal del íleon. En la etapa prenatal, la diferenciación morfológica entre el epitelio intestinal y el FAE ocurrió a partir de la 28.^a semana de gestación; a esta edad, las células de morfología linfóide propias del FAE, aparecieron en muchas regiones del epitelio de la cavidad crateriforme. A la 34.^a semana, el epitelio localizado encima de los folículos primigenios, fue de tipo estratificado con células cilíndricas bajas (Figura 26A). Entre la 37.^a a la 44.^a semana, el FAE se diferenció del epitelio de las vellosidades porque careció de células caliciformes, aunque las células cilíndricas bajas continuaron en el epitelio estratificado, estas presentaron microvellosidades; asimismo en estas semanas el FAE presentó células M y células de morfología linfóide (Figuras 26B, 26C y 26D).

A partir de la 46.^a semana, cuando ambos tipos de PP alcanzaron el desarrollo completo, el FAE presentó epitelio simple cilíndrico, pero estuvo rodeado de vellosidades y criptas de Lieberkühn, debido a esto, muchas secciones del FAE estuvieron ocultas entre las vellosidades (Figura 26E y 26F). En especímenes crías y adultos con el crecimiento de las vellosidades intestinales, el área del FAE también aumentó en tamaño; la muscular de la mucosa se encontró entrecortada, siendo apreciada a nivel de las vellosidades, pero no por debajo del FAE (Figura 27). Las células M, morfológicamente se caracterizaron por poseer núcleo grande, pálido y citoplasma irregular; mientras que, las células de morfología linfóide fueron de tamaño pequeño, con núcleo basófilo y escaso citoplasma (25B y 26D).

Al examen de barrido de alta magnificación, en fetos de las últimas semanas de gestación se evidenció ausencia de moco de recubrimiento en la superficie de la mucosa del íleon, lo que permitió observar e identificar los componentes ultraestructurales del FAE. A la 44.^a semana de gestación, el FAE de los domos solitarios del íleon, presentó células epiteliales con microvellosidades en la parte apical, generando el aspecto de una superficie aterciopelada y embalsada con mosaicos poliédricos; sobre esta superficie se observó algunas células de morfología linfóide (Figura 29A, 29A1, 29B y 29B1).

En adultos, el examen de barrido indicó que muchas zonas de la superficie del FAE, presentaron moco de recubrimiento, en muchas ocasiones se encontraron obliterando las criptas de Lieberkuhn, las vellosidades y los domos de PP, dificultando la visualización de la parte apical de las células que componen el FAE; no obstante, en algunos especímenes, la superficie uniformemente aterciopelada por las microvellosidades de las células epiteliales, fue interrumpida por depresiones a manera de pequeñas fosas que correspondieron a las células M (Figuras 30D); estas, fueron especialmente notorias en las PP de tipo conos crateriformes, cerca de las fosas se apreciaron algunas células de morfología linfoide en ambos tipos de PP (Figura 30E).

V DISCUSIÓN

Los estudios de morfología en general, inician con la descripción de aspectos básicos de anatomía e histología, y se complementan al emplear técnicas de mayor especificidad como: lectinohistoquímica, inmunohistoquímica, inmunofluorescencia, genética y ultraestructura de barrido o transmisión; de esta manera se han descrito las PP en humanos (Jung *et al.*, 2010; Castro y Villa, 2015), ratas (Sminia *et al.*, 1983; Cesta, 2006), ratones (Sobhon, 1971; Abe e Ito, 1977), rumiantes domésticos (Liebler -Tenorio y Pabst, 2006; Pedrera *et al.*, 2009) y camellos dromedarios (Alluwaimi *et al.*, 1999; Zidan y Pabst, 2008; Uhde *et al.*, 2017). En alpacas, estudios preliminares de las PP fueron descritas sólo de manera básica y exigua por De la Vega, (1951); Montalvo, (1966); Fernández *et al.*, (1999) y Roca *et al.*, (2014). El presente estudio brinda aspectos morfológicos de anatomía, histología y ultraestructura de barrido de las PP del íleon de la alpaca, y aunque la técnica de inmunohistoquímica no obtuvo el éxito deseado; aún esto, se presenta una descripción detallada y completa de la ontogenia de las PP, como la de un órgano linfoide alojado dentro de otro órgano propio del sistema digestivo.

Nuestros hallazgos demuestran que, en el íleon de la alpaca, anatómicamente las PP son estructuras discretas y aisladas, clasificadas como PP de tipo copa y PP de tipo conos-crateriformes y se ubican en la porción proximal y distal del íleon respectivamente. Ambos tipos de PP fueron reconocibles a partir de las últimas semanas de gestación y son notoriamente diferentes a las PP de yeyuno e íleon de rumiantes domésticos, como también son diferentes a las PP de roedores de laboratorio y humanos; no obstante, existe considerable similitud a las PP del íleon de camélidos del viejo mundo.

En bovinos (Landsverk *et al.*, 1991; Getty, 2001), ovinos (Reynolds y Morris, 1983), caprinos (Nickel *et al.*, 1979; Barone, 1997) y porcinos (Pabst *et al.*, 1988), las PP de yeyuno, aunque son formas anatómicas discretas y aisladas, no se asemejan a las PP de tipo copa o conos-crateriformes; mientras que, en el íleon la PP continua es una larga y estrecha banda, muy diferente a lo reportado en este estudio. Por otro lado, en ratones (Abe e Ito, 1977; Scudamore, 2014), ratas (Sminia *et al.*, 1983; Cesta, 2006) y humanos (Jung *et al.*, 2010) el intestino delgado, también presenta estructuras discretas y aisladas, pero estas, morfológicamente son diferentes a nuestros hallazgos.

En camellos dromedarios, las PP del íleon presentan formas de copa (Zidan y Pabst 2008), pero a las PP ubicadas hacia las porciones más distales del íleon Alluwaimi *et al.*, (1998) las notificaron como PP en forma de conos alargados; mientras que, en el íleon de camellos bactrianos, Qi *et al.*, (2011) reportaron PP de tipo copa en la porción proximal y PP de tipo quiste en la porción distal, si bien en duodeno y yeyuno reportaron otros tipos de PP también. Por lo observado en camélidos del viejo mundo y la alpaca, se deduce que estas especies comparten las mismas formas básicas de PP, corroborando la evidencia de cercanía filogenética, como lo propusieron Stanley *et al.*, (1994), Cui *et al.*, (2007) y Burger, (2016).

Las PP de tipo conos-crateriformes, con excepción de camélidos del viejo mundo, no fueron reportados en otras especies de mamíferos. No obstante, estructuras linfoides similares, con formas prominentes, voluptuosas y que forman cavidades, fueron reportadas en camellos dromedarios en regiones anatómicas como: las tonsilas linguales (Zidan y Pabst, 2020), tonsilas palatinas (Zidan y Pabst, 2009; Achaaban *et al.*, 2016) y en la región cardíaca y pilórica del abomaso (Hassan *et al.*, 2023); en tanto que, en camellos bactrianos, se las encontraron circundando la válvula ileal, y a nivel del intestino grueso (ZhaXi *et al.*, 2014).

Los hallazgos histológicos demuestran que, en todo el proceso ontogénico, las PP y el íleon están estrechamente vinculadas, e involucra cambios significativos en la mucosa y la submucosa. En la porción proximal del íleon se forma la estructura de copa y en la porción distal la cavidad crateriforme; los pliegues intestinales constituyen parte estructural de ambas estructuras; mientras que, las vellosidades y criptas acompañan el proceso formativo de las PP. Las vellosidades, criptas y pliegues intestinales fueron descritas en alpacas adultas (Montalvo, 1966), alpacas crías (Checcnes, 2014; Vásquez, 2021), fetos de alpacas (Vásquez, 2021), fetos de camellos dromedarios (Bello *et al.*, 2017), roedores de laboratorio (Scudamore, 2014; Treuting *et al.*, 2008) y demás mamíferos domésticos (Piezzi y Fornés, 2006; Bacha y Bacha, 2012), aunque no siempre fueron relacionadas a la ontogenia de algún tejido linfoide propio del intestino.

El área de la cavidad crateriforme es significativamente mayor al área de la estructura de copa; las células de morfología linfoide se establecen en el tejido conjuntivo de la lámina propia y la submucosa de ambas estructuras, y posteriormente dan origen a compartimentos como el FAE, el SED, el FA y el AIF, de manera similar a lo reportado en la mayoría de mamíferos (Ferrufino *et al.*, 1996; Gebert *et al.*, 1996; Brandtzaeg *et al.*, 2008). Si bien, ambos tipos de PP, presentan folículos linfoides de similar tamaño, de formas circulares u ovaladas; en las PP de tipo conos-crateriformes se observan en mayor cantidad, llegando a observarse hasta dos filas continuas de folículos; por otra parte, se reafirma que la disposición de las estructuras internas de las PP observadas por microanatomía, repercute en la morfología macroscópica.

La forma de los compartimentos de las PP del íleon de la alpaca, tienen gran similitud a las PP del íleon de camellos dromedarios (Alluwaimi *et al.*, 1998). Mientras que, en comparación a lo observado en ratas (Sminia *et al.*, 1983; Scudamore, 2014; Cesta, 2006), ratones (Faulk *et al.*, 1970) y humanos (Jung *et al.*, 2010; Castro y Villa, 2015), aunque presentan similitud en la forma de los folículos linfoides, la disposición de estos es diferente; esto en gran parte se debe a la falta de estructuras de PP observada en el íleon de las alpacas.

Por otro lado, en bovinos (Aleksandersen *et al.*, 1991; Landsverk, 1984; Larsen y Landsverk, 1986; Landsverk *et al.*, 1991; Pedrera *et al.*, 2009) y ovinos (Reynolds y Morris, 1983; Reynolds *et al.*, 1985; Liebler -Tenorio y Pabst, 2006; Kozuka *et al.*, 2010), se reportaron que en las PP de yeyuno los folículos linfoides son de forma circular, mientras que en la PP continua del íleon los folículos adoptan la forma de grandes sacos alargados, que disminuyen considerablemente el IFA, y los domos se hacen más puntiagudos y prominentes. Nuestros hallazgos evidencian que las PP del íleon de la alpaca, son histológicamente diferentes a las PP de estos rumiantes domésticos, siendo en especialmente diferente a la PP continua del íleon. Esta característica diferencial entre estas especies es de interés y trascendencia, debido a que estas especies de poligástricos muchas veces comparten similares sistemas de alimentación y crianza.

Paradójicamente, nuestros hallazgos son diferentes a lo reportado por Roca *et al.*, (2014) quienes indicaron que en alpacas crías, si bien las PP de yeyuno presentan histología típica propio de PP, en el íleon no se presentan las PP como tal, sólo se observó modera cantidad de población linfoide distribuida manera difusa. Esta ausencia de visibilidad de PP en el íleon posiblemente se deba a fallas en la técnica de muestreo, ya que las PP del íleon son estructuras aisladas y pequeñas en proporción a la longitud del íleon, a esto se suma la escasa cantidad, por lo que es importante realizar el muestreo de manera sistemática y en áreas específicas (Figura 5A) que se detalla en la del capítulo de materiales y métodos de este manuscrito.

El examen de ultraestructura panorámica de barrido, indican que la morfología de los domos varía con respecto a la edad y al tipo de PP; en las últimas semanas de la etapa fetal se observan formas de vellosidades gruesas, vellosidades planas, vellosidades puntiagudas, y formas de pirámides enroscadas; en la etapa adulta, las PP de tipo copa exhiben domos en forma de pirámides enroscadas con cúspides puntiagudas, mientras que, en las PP de tipo conos-crateriformes, son en forma de pirámides enroscadas, pero con cúspides romas, así como formas hemisféricas. Los domos en forma de pirámides observada en este estudio, no ha sido reportada hasta ahora en otros mamíferos; así en ratones, jerbos (Komazawa *et al.*, 1991), humanos (Kanou, 1984) y macacos Rhesus (Kuhn y Kaup, 1996), los domos son de formas hemisféricas; en bovinos son en forma de vellosidades u hojas aplanadas (Parsons *et al.*, 1991), las que Landsverk, (1981) las definió como pseudovellosidades, mientras que, en camellos dromedarios son de formas elongadas y hemisféricas (Zidan y Pabst, 2008).

A mayor magnificación de barrido, se observan las microvellosidades de la parte apical de las células epiteliales, que dan a los domos la apariencia de un área uniformemente apelmazada; ésta superficie es interrumpida por pequeñas depresiones a manera de fosas, que corresponden a las células M, aunque estas se observan en escasa cantidad y con relativa dificultad; además de esto, sobre los domos también se aprecian algunas células de morfología linfocítica. Estos resultados, difieren con lo descrito en humanos, donde se reportó células M en alta proporción (Owen y Jones, 1974; Kanou, 1984); en macacos Rhesus (Kuhn y Kaup, 1996) y en caprinos (Gautam *et al.*, 2017) se reportaron en escasa cantidad; mientras que, en bovinos fueron visibles sólo en PP de algunas regiones intestinales (Parsons *et al.*, 1991); por su parte, Zidan y Pabst, (2008) en camellos dromedarios las reportaron, pero con dificultad.

La formación de las pequeñas fosas en la superficie de los domos, ocurre como resultado de la disparidad en tamaño y forma entre los micropliegues de las células M y las microvellosidades de las células epiteliales, esta diferencia estructural al escaneo de barrido es detectable debido a su gran precisión de análisis de imágenes por contraste de profundidad (Parsons *et al.*, 1991; Vázquez y Echevarría, 2000); no obstante, debido a la función de transporte de antígenos al interior de la PP y a la irregularidad de sus membranas (Gebert *et al.*, 1996; Neutra *et al.*, 2001; Jung *et al.*, 2010), es posible que muchas de las células M, se encuentren por debajo del nivel apical de las células epiteliales, por lo que, no siempre son detectables al escaneo de barrido (Gebert *et al.*, 1996; Corr *et al.*, 2008); por tanto, es necesario emplear otras técnicas de diagnóstico para certificar su presencia.

Las células de morfología linfoide en la superficie de los domos, posiblemente correspondan a linfocitos intraepiteliales descritos en la mayoría de mamíferos (Gebert *et al.*, 1996; Jung *et al.*, 2010), debido a que estos tienen alto grado de asociación con las células M, ya que este linaje de linfocitos transita a través de las células M, además están involucradas con la regulación y la captación de antígenos (Gebert *et al.*, 1996). Las funciones y atribuciones de los linfocitos intraepiteliales, aún están no están del todo esclarecidas, por lo que es necesario continuar su estudio acerca de sus funciones en las alpacas.

En el presente estudio, se observó que la mucosa del íleon presentó elevada cantidad de moco, esta condición dificultó la visualización de las estructuras del FAE. La presencia y composición del moco pareciera ser diferente a la de otras especies; así en ratones y ratas el moco intestinal contiene glicoproteínas de mucina, moléculas bioactivas de unión a epitelio y otros péptidos asociados, que resulta en una sustancia de alta viscosidad que se desprende con relativa facilidad (Ermund *et al.*, 2013; Kim y Ho, 2010; Pelaseyed *et al.*, 2014). En camellos dromedarios, el moco es rico en ácidos carboxílicos neutros y pobre en ácidos sulfatados; los compuestos neutros se encuentran en mayor concentración en las vellosidades, y las ácidas en las criptas de Lieberkühn (Korkmaz y Kum, 2016). En alpacas, aunque no se ha estudiado la composición química del moco de recubrimiento, es posible que esté condicionada a la adaptación del sistema digestivo a la dieta agreste que consume esta especie, debido a las condiciones de rusticidad en las que se desarrolla (Vater y Maierl, 2018).

Con todo, la morfología de las PP del íleon de la alpaca, en especial las PP de tipo conos-crateriformes son órganos linfoides peculiares, con diferencia notorias respecto a lo reportado en otras especies de mamíferos. Se sabe que la respuesta inmune en el intestino, ocurre como consecuencia de la interacción entre las PP y los antígenos lumbinales (Tizar, 2009); en las PP de tipo conos-crateriformes, por la naturaleza de la cavidad crateriforme, que retiene parte del bolo alimenticio, así como la mayor proporción de FAE y tejido linfoide de PP; se deduce que el tiempo de contacto entre el bolo alimenticio y la superficie del tejido linfoide es mayor; a esto se suma la cercanía a la válvula ileal, que presenta cierre cíclico circadiano debido al proceso digestivo (Nickel *et al.*, 1979; Tizard, 2009); por lo que, todos estos factores, posiblemente modifiquen la respuesta inmune de manera favorable en este tipo de PP, aumentando así la actividad inmunológica (Tizard, 2009; Neutra *et al.*, 2001).

Nuestros hallazgos muestran que la ontogenia de las PP del íleon de la alpaca, aunque presenta los mismos eventos formativos que ocurren en otros mamíferos, presenta diferencia en el tiempo de ocurrencia cronológica; los eventos ontogénicos son evidenciables debido a los

cambios morfológicos en la estructura de copa y la cavidad crateriforme, el tejido conjuntivo del complejo lámina propia – submucosa y la población celular de morfología linfoide.

En la etapa prenatal, la mucosa del íleon, a la 11.^a semana de gestación presenta evaginaciones, a partir de la 22.^a semana, vellosidades y criptas de Lieberkühn, pero los esbozos de los pliegues intestinales aparecen recién a partir de la 32.^a semana. Estudios previos en el íleon de fetos de alpacas, realizados por Vásquez, (2021) indicó similitud en el tiempo de la aparición de las vellosidades; mas no así en cuanto a las criptas de Lieberkühn, que las reportó 10 semanas más tarde. Por otra parte, la cavidad crateriforme aparece a partir de la 14.^a semana, mientras que, la estructura de copa lo hace a partir de la 34.^a semana. La formación temprana de la cavidad crateriforme de PP, es un evento trascendental para la ontogenia de las PP del íleon, confirmándose que las condiciones tisulares para el establecimiento del tejido linfoide de PP ocurren de manera temprana.

El presente estudio revela que, a la 9.^a semana de gestación al menos dos linajes de células no linfoides están presentes; mientras que, las células de morfología linfoide, aparecen a partir de la 22.^a semana. Estos resultados son similares a lo reportado por Castro *et al.*, (2017) quienes indicaron que no se observan células linfoides en el intestino delgado de fetos de alpacas menores de 15 semanas; por otro lado, en roedores de laboratorio, se sabe que la ontogenia de las PP inicia con la diferenciación de población celular linfoide de la población no linfoide, que reaccionan al marcador VCAM-1, en contraste con las células del estroma intestinal, esto conlleva a la aparición de diversos linajes de linfocitos que inician la formación de las PP (Adachi *et al.*, 1997; Hashi *et al.*, 2001; Honda *et al.*, 2001). Las células no linfoides observadas en este estudio antes de la 22.^a semana de gestación, probablemente también respondan a este u otros marcadores moleculares específicos, y podrían ser de utilidad para precisar el tiempo exacto de la migración de las células linfoides, que dan inicio a la formación de las PP.

El desarrollo ontogénico de las PP del íleon es progresivo y lento hasta la 32.^a semana de gestación; a la 28.^a semana, aparece el primer esbozo de folículo linfoide solitario; a la 34.^a semana, aparecen dos esbozos de folículos continuos; pero el desarrollo de las PP como tal sucede rápidamente a partir de la 37.^a semana, para que, en fetos próximos a nacer, se encuentren completamente desarrolladas. Este patrón, es similar a lo reportado en ovinos (Reynolds y Morris, 1983; Aleksandersen *et al.*, 1991) y porcinos (Kruml *et al.*, 1970; Chapman *et al.*, 1974), cuyas PP aparecen al final del segundo tercio de gestación y se encuentran desarrolladas completamente al nacimiento; por su parte Roca *et al.*, (2014) también reportaron que al nacimiento el yeyuno e íleon presentan PP con desarrollo completo. El grado de desarrollo que alcanzan las PP en la etapa

prenatal, es un rasgo de interés clínico; debido a que, existiría la posibilidad de innovar y utilizar técnicas de estimulación de las PP en esta etapa, para dar inicio a la maduración aún más temprana de las PP y así hacer más efectiva la respuesta inmune en las crías de alpacas.

El hecho de que los eventos ontogénicos ocurran de manera rápida durante las últimas semanas de gestación, concuerda con el ritmo de desarrollo fetal en general durante el 3.^{er} tercio de gestación reportado en varios mamíferos; en alpacas (Bravo y Valera, 1993), en camellos (Elwishy *et al.*, 1981) y en la mayoría de mamíferos domésticos (Evans y Sack, 1973) en esta etapa, se registraron curvas de desarrollo de tipo cuadrática. Por tanto, por este rasgo de desarrollo prenatal se reafirma la importancia del cuidado de los rebaños de alpacas madres durante este periodo, con la finalidad de no alterar el proceso formativo de las PP y así obtener crías inmunológicamente fuertes (Huanca, 2020; San-Martin *et al.*, 1968; García, 2005).

Por otro lado, el patrón de desarrollo prenatal de las PP del íleon de la alpaca, es diferente a lo reportado en ratones (Ferguson, 1977; Finke y Kraehenbuhl, 2001) y ratas (Sminia *et al.*, 1983; Heel *et al.*, 1997), en estas especies, los esbozos de las PP aparecen de manera tardía durante el 3.^{er} tercio de gestación y el desarrollo completo abarca hasta la etapa postnatal, sobretodo en ratones que sucede al final del destete (Ferguson, 1977).

En la etapa postnatal, nuestros resultados evidencian que los GC aparecen en los folículos linfoides de forma parcial en la primera semana de vida y se completa en crías entre la 4.^a y la 6.^a semana. Estos hallazgos son similares a lo reportado en ratas que ocurre a la 4.^a semana (Sminia *et al.*, 1983; Van Rees *et al.*, 1990); en ratones ocurre a la 5.^a semana (Ferguson, 1977), en porcinos entre la 2.^a y 3.^a semana (Furukawa *et al.*, 2020; Makala *et al.*, 2000) y en ovinos se completa en la 6.^a semana (Reynolds y Morris, 1983). Por su parte, Roca *et al.*, (2014) al evaluar crías de alpacas de hasta 45 días de nacidas, reportaron que los GC en las PP de yeyuno e íleon aparecen a partir del 15.^o día de nacidas; sin embargo, el desarrollo de las PP de yeyuno fue progresivo durante todo el periodo de estudio, mientras que, en las PP del íleon el crecimiento fue estacional en los primeros 45 días de nacidos.

La aparición de los GC, marca el inicio del proceso de maduración de las PP, esto ocurre como consecuencia de la interacción del tejido linfoide de PP con antígenos lumenales del intestino (Tizard, 2009). Nuestros hallazgos, coinciden en este punto con lo que ocurre en otras especies de mamíferos; si bien, no se probó ningún antígeno xenobiótico, es posible que los antígenos naturales del calostro y la leche materna indujeran a la formación de los GC; no obstante, es necesario estudiar la variación de esta respuesta, usando antígenos específicos por

separado, como fue probado con éxito en ratones (Pollard y Sharon, 1970), en ovinos (Reynolds y Morris, 1984) y en porcinos (Pabst *et al.*, 1988; Barman *et al.*, 1997; Rothkötter y Pabst, 1989).

El presente estudio, muestra que sólo en 1 de los 10 especímenes adultos examinados, se observa morfología relacionada con atrofia del tejido linfoide de PP; en este caso particular, si bien la morfología de los compartimentos de PP se mantiene intacta, las células de morfología linfoide en los folículos linfoides disminuyen en volumen considerablemente, y son reemplazadas por células de morfología estrellada y abundante matriz de tejido conjuntivo. Con todo, el grado de atrofia observado en este grupo etario, no es un indicativo para aseverar que exista un proceso involutivo de las PP del íleon de las alpacas, al menos no en especímenes alpacas antes de los 6 años de edad.

Nuestros hallazgos son similares a los estudios realizados en camellos dromedarios por Alluwaimi *et al.*, (1998) y Zidan y Pabst, (2008), quienes reportaron que en animales de hasta 25 años de edad, las PP del íleon sólo presentan cambios leves morfológicos; los mismos que, son cambios más compatibles a estados de atrofia que a involución. Por otro lado, es paradójicamente diferente a lo reportado por Roca *et al.*, (2014) quienes reportaron que la involución de las PP del íleon de crías de alpaca ocurre aproximadamente a partir del 18.º día de vida; en cambio, a partir de esta edad, las PP de yeyuno presentan incremento en el desarrollo, y se afianzan como órganos linfoides del intestino delgado.

Con respecto a, los ovinos (Reynolds y Morris, 1983; Reynolds y Kirk, 1989), bovinos (Landsverk *et al.*, 1991; Liebler –Tenorio y Pabst, 2006; Kozuka *et al.*, 2010) y porcinos (Pabst *et al.*, 1988), se sabe que la involución de la PP continua del íleon, es un evento común que ocurre de manera temprana después del nacimiento, a la edad adulta no se observa rezagos de tejido linfoide en el íleon; los cambios que acompañan el proceso involutivo en ovinos incluyen disminución de la población linfoide y cambios en la forma de los folículos, de sacos grandes y alargados a pequeñas formas piriformes (Lie *et al.*, 2005), la involución inicia a partir del 2.º mes de vida, termina al 18.º mes, y a los 2 años de edad no se observan rasgos de la PP continua en el íleon (Reynolds y Morris, 1983; Reynolds y Morris, 1984), no obstante, las PP de yeyuno permanecen activas por el resto de la vida del animal.

La involución es el proceso por el cual un órgano retorna al estado anterior a su formación; a nivel celular, se observa proteólisis, regresión, apoptosis celular y fibrosis; la reorganización del tejido estromal conduce a la reducción del tamaño del órgano. Mientras que, la atrofia es el desgaste total o parcial de un órgano, debido a la pérdida de masa celular; las células atróficas

muestran disminución de la función, pero no están muertas (Kerr *et al.*, 1972). La involución temprana de algunos órganos linfoides ha sido evidenciada como parte del desarrollo fisiológico relacionado a la edad (Gruver *et al.*, 2007; Tizard, 2009); la involución del timo esta supeditada a causas extrínsecas entre las que se encuentran agentes bacterianos, virales, parasitarios y fúngicos; además de factores intrínsecos como estrés, estados fisiológicos condicionada por hormonas sexuales, desnutrición y exposición a agentes quimioterápicos (Hince *et al.*, 2008; Ansari AR y Liu H, 2017).

En la crianza de alpacas, se han reportado diversos factores que desencadenan el estrés en los rebaños, entre estos se cuentan aspectos relacionados al medio ambiente, así como también los relacionados a la alimentación y al manejo (Bustinza, 2001; Bennett y Richards, 2015). Entre los signos de respuesta al estrés se han reportado estados de inmunosupresión que afectan la productividad, la reproducción y también se han observado problemas de salud agudos que demandan atención clínica (Van Saun *et al.*, 1996; Van Saun, 2008; Wittek *et al.*, 2017; Piccione *et al.*, 2017). La atrofia de las PP observada en el presente estudio, podría deberse a algunos de estos factores mencionados; por lo que, es necesario identificarlos mediante la conducción de estudios controlados en las alpacas.

El presente estudio, si bien evidencia ausencia de involución de las PP del íleon de la alpaca antes de los 6 años de edad, esto no descarta la posibilidad de que este evento ontogénico pueda ocurrir después de esta edad. No obstante, nuestros hallazgos ponen en duda la sospecha del rol de órgano linfoide primario que las PP del íleon pudieran desempeñar en la alpaca. Por el contrario, en ovinos, se determinó que la PP continua del íleon desempeña el rol de órgano linfoide primario, por las peculiaridades como: morfología especial, maduración prenatal, intensa actividad linfopoyética y finalmente involución a la edad adulta (Reynolds *et al.*, 1981; Reynaud *et al.*, 1991). Por tanto, con respecto a este papel inmune es necesario realizar otros estudios para establecer el rol real que desempeñan en las alpacas.

VI CONCLUSIONES

1. La descripción anatómica, histológica y ultraestructural indican que, aunque las PP del íleon de la alpaca son estructuras discretas y aisladas; se clasifican en: PP de tipo copa y PP de tipo conos-crateriformes. La disposición de los folículos linfoides, forma de los compartimentos y de los domos fue influenciada por el tipo de PP; pero las PP de tipo conos-crateriformes, presentaron morfología singular y se trata de estructuras linfoides peculiares, que, a excepción de camélidos del viejo mundo, no han sido reportadas en otras especies de mamíferos.

2. El proceso ontogénico de las PP del íleon, inicia en la etapa prenatal, con la formación de la cavidad crateriforme, que aparece a partir de la 14.^a semana de gestación; mientras que la estructura de copa es reconocible recién a la 37.^a semana. En cuanto al tejido linfoide, si bien, desde la 9.^a semana de gestación se observan hasta dos linajes de células en la submucosa, las células de morfología linfoide aparecen a partir de la 22.^a semana, los primeros esbozos de folículos linfoides se forman entre la 28.^a a la 34.^a semana, pero la formación de las PP como tal sucede rápidamente a partir de la 37.^a semana, para que a la 46.^a semana las PP estuvieran completamente desarrolladas.

3. En la etapa postnatal, durante la 1.^a semana de vida, los GC aparecen parcialmente, pero la maduración completa acontece entre la 3.^a a la 6.^a semana. A la edad adulta, las PP aparecen completamente maduras. Excepcionalmente en algunos especímenes se observa posibles estados de atrofia, acompañado de cambios morfológicos especialmente a nivel de los folículos linfoides. Este estado de atrofia, no es indicativo de involución de las PP, como sucede en otras especies de mamíferos en los que las PP del íleon son considerados órganos linfoides primarios

4. El FAE, se diferenci6 del epitelio del ileon en desarrollo, a partir de la 34.^a semana, estuvo compuesto por epitelio simple cil6ndrico, que careci6 de c6lulas caliciformes; no obstante, present6 c6lulas M y c6lulas de morfolog6a linfoide. La presencia de los componentes del FAE, fue confirmada, aunque con dificultad por la examinaci6n de SEM.

VII LITERATURA CITADA

1. **Abe K, Ito T. 1977.** A qualitative and quantitative morphologic study of Peyer's patches of the mouse. Arch Histol Jap 5(40):407-420
2. **Achaaban MR, Mouloud M, Tligui NS, El Allali K. 2016.** Main anatomical and histological features of the tonsils in the camel (*Camelus dromedarius*). Trop Anim Health Prod. 48(8):1653-1659. <https://doi.org/10.1007/s11250-016-1139-x>
3. **Adachi S, Yoshida H, Kataoka H, Nishikawa S. 1997.** Three distinctive steps in Peyer's patch formation of murine embryo. Int Immunol. 9(4), 507–514. <https://doi.org/10.1093/intimm/9.4.507>
4. **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. [https://doi.org/10.1016/0145-305x\(91\)90033-u](https://doi.org/10.1016/0145-305x(91)90033-u)
5. **Allen CD, Okada T, Cyster JG. 2007.** Germinal-center organization and cellular dynamics. Immunity 27(2):190-202. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2007.07.009>
6. **Alluwaimi AM, Fath El-Bab MR, Ahmed AK, Ali AMA. 1998.** Studies on the ileal lymphoid tissue (Peyer's patches) in Camels, Najdi sheep and cattle. J Camel Pract Res 5(1):13-18.
7. **Ameghino E. 1991.** Causas de mortalidad en crías de alpacas. En: Fernández-Baca S (ed). Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos. Santiago de Chile: FAO. p 149-200.
8. **Ansari AR, Liu H. 2017.** Acute Thymic Involution and Mechanisms for Recovery. Arch Immunol Ther Exp (Varsovia). 65(5), 401–420. <https://doi.org/10.1007/s00005-017-0462-x>

9. **Bacha WJ, Bacha LM. 2012.** Color atlas of veterinary histology. 3^a ed. Unit Kindong: Wiley-Blackwell. 358 p.
10. **Banks W. 1996.** Histología veterinaria aplicada. 2^o ed. México: Manual Moderno. 750 p.
11. **Barman NN, Bianchi AT, Zwart RJ, Pabst R, Rothkötter HJ. 1997.** Jejunal and ileal Peyer's patches in pigs differ in their postnatal development. *Anat Embryol* 195:41-50. <https://doi.org/10.1007/s004290050023>
12. **Barone R. 1997.** Anatomie Comparee des mammifères domestiques, Tome 3, Splanchnologie I: appareil digestif appareil respiratoire. 3^a ed. Paris: Vigot. 874 p.
13. **Bauer M. E. 2008.** Chronic stress and immunosenescence: a review. *Neuroimmunomodulation*, 15(4-6), 241–250. <https://doi.org/10.1159/000156467>
14. **Bello A, Onyeanusib BI, Sonfadac ML, Adeyanjud JB, Umarud MA. 2012.** A biometric study of the digestive tract of one-humped camel (*Camelus dromedarius*) fetuses. *Scientific Journal of Zoology* 1(1) 11-16
15. **Bello A, Umaru MA, Onu JE. 2017.** Fetal differentiation of the ileum of one humped camel (*Camelus dromedarius*): a histomorphology. *Multidisciplinary Advances in Veterinary Science* 1.3: 82-88
16. **Bennett MM, Richards NL. 2015.** Camelid wellness. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*, 18(2), 255–280. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2015.01.006>
17. **Beyaz F, Aşti RN. 2004.** Development of ileal Peyer's patches and follicle associated epithelium in bovine foetuses. *Anat Histol Embryol.* 33(3), 172–179. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0264.2004.00530.x>
18. **Binns RM, Licence ST. 1985.** Patterns of migration of labelled blood lymphocyte subpopulations: evidence for two types of Peyer's patch in the young pig. *Adv Exp Med Biol.* 186: 661-668. https://doi.org/10.1007/978-1-4613-2463-8_81
19. **Bonneville M., Janeway CA, Jr Ito K, Haser W, Ishida I, Nakanishi N, Tonegawa S. 1988.** Intestinal intraepithelial lymphocytes are a distinct set of gamma delta T cells. *Nature*, 336(6198), 479–481. <https://doi.org/10.1038/336479a0>
20. **Brandtzaeg P, Kiyono H, Pabst R, Russell MW. 2008.** Terminology: nomenclature of mucosa-associated lymphoid tissue. *Mucosal Immunol.* 1(1):31-37. <https://doi.org/10.1038/mi.2007.9>
21. **Brandtzaeg P. 2009.** Mucosal immunity: induction, dissemination, and effector functions. *Scand J Immunol*, 70(6):505-515. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2009.02319.x>
22. **Bravo PW, Varela MH. 1993.** Prenatal development of the alpaca (*Lama pacos*). *Anim Reprod Sci* 32: 245-252. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(93\)90096-A](https://doi.org/10.1016/0378-4320(93)90096-A)
23. **Bridges RA, Condie RM, Zak SJ, Good RA. 1959.** The morphologic basis of antibody formation development during the neonatal period. *J Lab Clin Med.* 53(3), 331–357.

24. **Burger PA. 2016.** The history of old world camelids in the light of molecular genetics. *Trop Anim Health Prod* 48: 905-913. <https://doi.org/10.1007/s11250-016-1032-7>
25. **Bustinza V. 2001.** La alpaca: conocimiento del gran potencial andino. Puno-Perú: Univ Nac del Altiplano. 496 p.
26. **Carlens O. 1928.** Studien über das lymphatische Gewebe des Darmkanals bei einigen Haustieren, mit besonderer Berücksichtigung der embryonalen Entwicklung, der Mengenverhältnisse und der Altersinvolution dieses Gewebes im Dünndarm des Rindes. *Z. Anat. Entwickl. Gesch.* 86, 393–493.
27. **Castro ANC, Diaz MC, Mendoza-Torres GJ, Llerena-Zavala CA, Ghezzi MD, Barbeito CG. 2018.** Morphology of alpaca (*Vicugna pacos*) embryos in the first third of pregnancy. *Reprod Dom Anim* 53: 655-666. <https://doi.org/10.1111/rda.13155>
28. **Castro P, Villa JM. 2015.** Sistema inmunitario de la mucosa intestinal. *Reduca (Biología)* 8(2):1-15.
29. **Cesta MF. 2006.** Normal structure, function, and histology of mucosa-associated lymphoid tissue. *Toxicol Pathol.* 34(5):599-608. <https://doi.org/10.1080/01926230600865531>
30. **Chapman HA, Johnson JS, Cooper MD. 1974.** Ontogeny of Peyer's patches and immunoglobulin-containing cells in pigs. *J Immunol.* 112(2):555-63. PMID: 4591974.
31. **Chase C, Kaushik RS. 2019.** Mucosal immune system of cattle: all immune responses begin here. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 35(3):431-451. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.08.006>
32. **Checcnes N. 2014.** Morfometría de la mucosa del intestino delgado de crías de alpacas (*Vicugna pacos*). Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 74p.
33. **Chianini F, Majó N, Segalés J, Domínguez J, Domingo M. 2001.** Immunohistological study of the immune system cells in paraffin-embedded tissues of conventional pigs. *Vet Immunol Immunopathol.* 82(3-4):245-255. [https://doi.org/10.1016/s0165-2427\(01\)00364-6](https://doi.org/10.1016/s0165-2427(01)00364-6)
34. **Chu RM, Liu CH. 1984.** Morphological and functional comparisons of Peyer's patches in different parts of the swine small intestine. *Vet Immunol Immunopathol.* 6(3-4):391-403. [https://doi.org/10.1016/0165-2427\(84\)90063-1](https://doi.org/10.1016/0165-2427(84)90063-1)
35. **Coleman RM, Lombard MF, Sicard RE, Rencricca NJ. 1989.** Development of immunity. En: Coleman RM, Lombard MF, Sicard RE, eds. *Fundamental Immunology*. 1ª ed. Iowa: WC Brown Publishers. p 509-535.
36. **Cornes JS. 1965.** Number, size, and distribution of Peyer's patches in the human small intestine: Part I The development of Peyer's patches. *Gut*, 6(3), 225–229. <https://doi.org/10.1136/gut.6.3.225>

37. **Cornes JS. 1965.** Number, size, and distribution of Peyer's patches in the human small intestine: Part II The effect of age on Peyer's patches. *Gut*, 6(3), 230–233.
<https://doi.org/10.1136/gut.6.3.230>
38. **Corr SC, Gahan CC, Hill C. 2008.** M-cells: origin, morphology and role in mucosal immunity and microbial pathogenesis. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 52(1):2-12.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2007.00359.x>
39. **Croitoru K, Ernst PB. 1992.** Leukocytes in the intestinal epithelium: an unusual immunological compartment revisited. *Reg immunol*. 4(2), 63–69.
40. **Cui P, Ji R, Ding F, Qi D, Gao H, Meng H, Yu J, Hu S, Zhang H. 2007.** A complete mitochondrial genome sequence of the wild two-humped camel (*Camelus bactrianus ferus*): an evolutionary history of camelidae. *BMC genomics*. 8(241).
<https://doi.org/10.1186/1471-2164-8-241>
41. **Dekaney CM, Bazer FW, Jaeger LA. 1997.** Mucosal morphogenesis and cytodifferentiation in fetal porcine small intestine. *Anat rec*. 249(4), 517–523.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0185\(199712\)249:4<517::AID-AR12>3.0.CO;2-R](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0185(199712)249:4<517::AID-AR12>3.0.CO;2-R)
42. **De la Vega E. 1951.** Aspectos histológicos del aparato digestivo y sistema urogenital de la alpaca. Tesis bachillerato Fac. Med. Vet. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos 48 p.
43. **Dellman HD. 1994.** Histología veterinaria. 2ª ed. España: Acribia. 398 p.
44. **Doughri AM, Altera KP, Kainer RA. 1972.** Some developmental aspects of the bovine fetal gut. *Zentralbl Veterinarmed A* 19(5):417-34. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.1972.tb00493.x>
45. **Egerton RF. 2016.** Physical principles of electron microscopy an introduction to TEM, SEM, and AEM. 2ª Ed. Canadá: Springer International Publishing Switzerland. 203p.
46. **Elwishy AB, Hemeida NA, Omar MA, Mobarak AM, El Sayed MA. 1981.** Functional changes in the pregnant camel with special reference to foetal growth. *Br Vet J*. 137(5):527–537. [https://doi.org/10.1016/s0007-1935\(17\)31592-0](https://doi.org/10.1016/s0007-1935(17)31592-0)
47. **Ermak TH, Steger HJ, Pappo J. 1990.** Phenotypically distinct subpopulations of T cells in domes and M-cell pockets of rabbit gut-associated lymphoid tissues. *Immunology*. 71(4):530-7.
48. **Ermund A, Gustafsson JK, Hansson GC, Keita AV. 2013.** Mucus properties and goblet cell quantification in mouse, rat and human ileal Peyer's patches. *PloS one*, 8(12), e83688.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083688>
49. **Evans HE, Sack WO. 1973.** Prenatal development of domestic and laboratory mammals: growth curves, external features and selected references. *Anat Histol Embryol*. 2(1):11-45.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0264.1973.tb00253.x>

50. **Faulk WP, McCormick JN, Goodman JR, Yoffey JM, Fudenberg HH. 1970.** Peyer's patches: Morphologic studies. *Cell Immunol.* 1(5):500–520. [https://doi.org/10.1016/0008-8749\(70\)90038-9](https://doi.org/10.1016/0008-8749(70)90038-9)
51. **Ferguson A. 1977.** Intraepithelial lymphocytes of the small intestine. *Gut.* 18(11), 921–937. <https://doi.org/10.1136/gut.18.11.921>.
52. **Fernández TD, Tabacchi NL, Sandoval ChN, Perales CR, Santillán AG. 1999.** Caracterización de la estructura histológica de los órganos linfoides en alpacas (*Lama pacos*). *Rev Inv Vet Perú* 10(2):1-10. <https://doi.org/10.15381/rivep.v10i2.6679>
53. **Fernández TD 1997.** Estudio de la estructura histológica de los órganos linfoides en alpacas (*Lama pacos*). Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 54 p.
54. **Ferrufino JC, Taxa L, Angeles G. 1996.** Histología normal del intestino delgado. *Rev Med Hered.* 7(1):46-57.
55. **Finke D, Kraehenbuhl JP. 2001.** Formation of Peyer's patches. *Curr Opin Genet Dev* 11(5):561-7. [https://doi.org/10.1016/s0959-437x\(00\)00233-1](https://doi.org/10.1016/s0959-437x(00)00233-1)
56. **Fowler ME. 2010.** Digestive system. En: Fowler ME, eds. *Medicine and surgery of south american camelids*. 3ª ed. USA: Blackwell Publishing. p 351-402.
57. **Frey A, Giannasca KT, Weltzin R, Giannasca PJ, Reggio H, Lencer WI, Neutra MR. 1996.** Role of the glycocalyx in regulating access of microparticles to apical plasma membranes of intestinal epithelial cells: implications for microbial attachment and oral vaccine targeting. *J Exp Med.* 184(3):1045-59. <https://doi.org/10.1084/jem.184.3.1045>
58. **Furukawa M, Ito S, Suzuki S, Fuchimoto D, Onishi A, Niimi K, Usami K, Wu G, Bazer FW, Ogasawara K, Watanabe K, Aso H, Nochi T. 2020.** Organogenesis of ileal Peyer's patches is initiated prenatally and accelerated postnatally with comprehensive proliferation of B cells in pigs. *Front Immunol.* 11. 604674. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.604674>
59. **García VW. 2005.** Reproducción en camélidos sudamericanos domésticos. En: San Martín F, Pezo CD, Olazábal LJP, Franco FF. *Manual del técnico alpaquero*. p 7- 28.
60. **Gautam CK, Talukdar M, Sarma K, Barman NN. 2017.** Scanning electron microscopic study of caprine intestine with special reference to gut-associated lymphoid tissues. *Curr Sci* 112:12. 2475-2477.
61. **Gazitúa 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(1-2):81–92. [https://doi.org/10.1016/s0378-4320\(01\)00083-5](https://doi.org/10.1016/s0378-4320(01)00083-5)
62. **Geneser F. 2005.** Histología sobre bases moleculares. 3ª Ed. Buenos Aires: Médica Panamericana. 828 p.

63. **Gebert A, Rothkötter HJ, Pabst R. 1996.** M cells in Peyer's patches of the intestine. *Int Rev Cytol* 167:91-159. [https://doi.org/10.1016/s0074-7696\(08\)61346-7](https://doi.org/10.1016/s0074-7696(08)61346-7)
64. **Getty R. 2001.** Sisson y Grossman, Anatomía de los animales domésticos, Tomo I. 5ª Ed. Barcelona: Masson SA. 1404 p.
65. **Gil J, Gimeno M, Laborda J, Nuviala J, 2012.** Protocolos de disección. 3º Ed. España: SERVET. 350 p.
66. **Gómez-Lucia E, Blanco DM, Doménech A. 2006.** Manual de inmunología veterinaria 17ª ed. España: Pearson Prentice Hall. 728 p.
67. **González N, Barbeito GB. 2014.** Histología de las aves. 1ª ed. Buenos Aires, Argentina: Universidad Nacional de La Plata. 506 p.
68. **Gruver AL, Hudson LL, Sempowski GD. 2007.** Immunosenescence of ageing. *J Pathol.* 211(2), 144–156. <https://doi.org/10.1002/path.2104>
69. **Gutiérrez JA. 2010.** Inmunología veterinaria. 1ª ed. México: El Manual Moderno. 150 p.
70. **Guy-Grand D, Rocha B, Vassalli P. 1993.** Origin and development of gut intraepithelial lymphocytes. En: Kiyono H, McGhee JR, eds. *Mucosal Immunology: Intraepithelial Lymphocytes*. 2ª ed USA: Raven Press. p. 21-31.
71. **Haley PJ. 2003.** Species differences in the structure and function of the immune system. *Toxicology*.188(1): 49-71. [https://doi.org/10.1016/s0300-483x\(03\)00043-x](https://doi.org/10.1016/s0300-483x(03)00043-x)
72. **Haley PJ. 2017.** The lymphoid system: a review of species differences. *J Toxicol Pathol.* 30(2):111-123. <https://doi.org/10.1293/tox.2016-0075>
73. **Hashi H, Yoshida H, Honda K, Fraser S, Kubo H, Awane M, Takabayashi A, Nakano H, Yamaoka Y, Nishikawa S. 2001.** Compartmentalization of Peyer's patch anlagen before lymphocyte entry. *J Immun Balt*, 166(6), 3702–3709. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.166.6.3702>
74. **Hassan Omer ZI, Lu J, Cheng YJ, Li PX, Chen ZH, Wang WH. 2023.** Age-dependent changes in the anatomical and histological characteristics of the aggregated lymphoid nodules in the stomach of Dromedary camels (*Camelus Dromedarius*). *PLoS One*. 18(3):e0279417. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0279417>
75. **Heel KA, McCauley RD, Papadimitriou JM, Hall JC. 1997.** Review: Peyer's patches. *J Gastroenterol Hepatol* 12(2):122-136. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.1997.tb00395.x>
76. **Hein WR, Dudler L, Mackay CR. 1989.** Surface expression of differentiation antigens on lymphocytes in the ileal and jejunal Peyer's patches of lambs. *Immunology*. 68(3):365-370.
77. **Heinen E, Cormann N, Kinet-Denoël C. 1988.** Reviews: The lymph follicle: a hard nut to crack. *Immunol Today* 9(7-8):240-243. [https://doi.org/10.1016/0167-5699\(88\)91223-6](https://doi.org/10.1016/0167-5699(88)91223-6)

78. **Hince M, Sakkal S, Vlahos K, Dudakov J, Boyd R, Chidgey A. 2008.** The role of sex steroids and gonadectomy in the control of thymic involution. *Cell Immunol.* 252(1-2), 122–138. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2007.10.007>
79. **Honda K, Nakano H, Yoshida H, Nishikawa S, Rennert P, Ikuta K, Tamechika M, Yamaguchi K, Fukumoto T, Chiba T, Nishikawa SI. 2001.** Molecular basis for hematopoietic/mesenchymal interaction during initiation of Peyer's patch organogenesis. *J Exp Med.* 193(5), 621–630. <https://doi.org/10.1084/jem.193.5.621>
80. **Huanca T. 2020.** Manual técnico: Producción de alpacas. 1ª ed. Lima – Perú. Instituto de investigación de innovación agraria INIA. 327 p.
81. **International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature (ICVGAN). 2017.** Nómina anatómica veterinaria. 6ª ed. WAVA. [Internet]. Disponible en: http://www.wava-amav.org/downloads/NAV_2017.pdf
82. **International Committee on Veterinary Histological Nomenclature (ICVHN). 2017.** Nómina histológica veterinaria. WAVA. [Internet]. Disponible en: http://www.wava-amav.org/downloads/NHV_2017.pdf
83. **Jukic AM, Baird DD, Weinberg CR, McConnaughey DR, Wilcox AJ. 2013.** Length of human pregnancy and contributors to its natural variation. *Human reproduction (Oxford, England)*, 28(10), 2848–2855. <https://doi.org/10.1093/humrep/det297>
84. **Jung C, Hugot JP, Barreau F. 2010.** Peyer's patches: The immune sensors of the intestine. *Int J Inflam.* 19:2010:823710. <https://doi.org/10.4061/2010/823710>
85. **Kanou T. 1984.** Morphological study of microfold cells of intestinal lymphoid follicles in Peyer's patches. *Kawasaki Med J.* 10 (3): 181-189.
86. **Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. 1972.** Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*, 26(4), 239–257. <https://doi.org/10.1038/bjc.1972.33>
87. **Kim YS, Ho SB. 2010.** Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: recent insights and progress. *Curr gastroenterol report.* 12(5), 319–330. <https://doi.org/10.1007/s11894-010-0131-2>
88. **Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA. 2007.** Inmunología de Kuby. 6ª ed. México: McGraw-Hill interamericana. 697 p.
89. **Komazawa S, Iki H, Ohmura M, Tsutsui S, Fujiwara K. 1991.** Comparative studies on distribution and fine morphology of the intestinal Peyer's patches in Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*) and mice. *J Vet Med Sci.* 53(5):899-904. <https://doi.org/10.1292/jvms.53.899>

90. **Korkmaz D, Kum S. 2016.** Histological and histochemical study of the small intestine of the dromedary camel (*Camelus dromedarius*). Journal of Camel Practice and Research. Vol 23 No 1, p 111-116. <https://doi.org/10.5958/2277-8934.2016.00018.7>
91. **Kozuka Y, Nasu T, Murakami T, Yasuda M. 2010.** Comparative studies on the secondary lymphoid tissue areas in the chicken bursa of Fabricius and calf ileal Peyer's patch. Vet Immunol Immunopathol. 133(2-4):190-7. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2009.08.003>
92. **Kruml J, Kovárů F, Ludvík J, Trebichavský I. 1970.** The development of lymphoid and haemopoietic tissues in pig fetuses. Folia Microbiol (Praha). 15(1):17-22. <https://doi.org/10.1007/BF02867043>
93. **Kuhn EM, Kaup FJ. 1996.** Morphological characteristics of the ileal Peyer's patches in the rhesus macaque: a histological and ultrastructural study. Anat Histol Embryol. 25(1):65-9. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0264.1996.tb00061.x>
94. **Landsverk T. 1981.** The epithelium covering Peyer's patches in young milk-fed calves. An ultrastructural and enzyme histochemical investigation. Acta Vet Scand. 22(2):198-210. <https://doi.org/10.1186/BF03547509>
95. **Landsverk T. 1984.** Is the ileo-caecal Peyer's patch in ruminants a mammalian "bursa-equivalent"? Acta Pathol Microbiol Immunol Scand A. 92(1): 77-9. <https://doi.org/10.1111/j.1699-0463.1984.tb04380.x>
96. **Landsverk T. 1987.** The follicle-associated epithelium of the ileal Peyer's patch in ruminants is distinguished by its shedding of 50 nm particles. Immunol Cell Biol. 65(Pt 3): 251-61. <https://doi.org/10.1038/icb.1987.28>
97. **Landsverk T, Halleraker M, Aleksandersen M, McClure S, Hein W, Nicander L. 1991.** The intestinal habitat for organized lymphoid tissues in ruminants: comparative aspects of structure, function and development. Vet Immunol Immunopathol 28(1):1-16. [https://doi.org/10.1016/0165-2427\(91\)90038-e](https://doi.org/10.1016/0165-2427(91)90038-e)
98. **Larsen HJ, Landsverk T. 1986.** Distribution of T and B lymphocytes in jejunal and ileocaecal Peyer's patches of lambs. Res Vet Sci. 40(1):105-111.
99. **Lee KA, Flores RR, Jang IH, Saathoff A, Robbins PD. 2022.** Immune Senescence, Immunosenescence and Aging. Frontiers in aging, 3, 900028. <https://doi.org/10.3389/fragi.2022.900028>
100. **Lie KI, Aleksandersen M, Landsverk T. 2005.** Lymphoid follicles of different phenotype appear in ileum during involution of the sheep ileal Peyer's patch. Dev Comp Immunol 29(6): 539-53. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2004.10.009>
101. **Liebler-Tenorio EM, Pabst R. 2006.** MALT structure and function in farm animals. Vet Res 37(3): 257-280. <https://doi.org/10.1051/vetres:2006001>

102. **Mac-Donals. 1993.** Antigen-Independent and Antigen-dependent development of mucosal immunity and hypersensitivity. En: Walker WA, Harmatz PR, Wershil BK, eds. Immunophysiology of the Gut 1.^a ed. USA. Academic Press. p 99-109. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-732085-4.50017-5>
103. **Mac-Lennan IC. 1994.** Germinal centers. Annu Rev Immunol 12:117-39. <https://doi.org/10.1146/annurev.iy.12.040194.001001>
104. **Makala LH, Kamada T, Nishikawa Y, Nagasawa H, Igarashi I, Fujisaki K, Suzuki N, Mikami T, Haverson K, Bailey M, Stokes CR, Bland PW. 2000.** Ontogeny of pig discrete Peyer's patches: distribution and morphometric analysis. Pathobiology 68(6):275-82. <https://doi.org/10.1159/000055938>
105. **Makala LH, Suzuki N, Nagasawa, H. 2002.** Peyer's patches: organized lymphoid structures for the induction of mucosal immune responses in the intestine. Pathobiology. 70(2), 55–68. <https://doi.org/10.1159/000067305>
106. **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: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 48 p.
107. **Moxey PC, Trier JS. 1979.** Development of villus absorptive cells in the human fetal small intestine: a morphological and morphometric study. Anat Rec. 195(3), 463–482. <https://doi.org/10.1002/ar.1091950307>
108. **Murphy K, Travers P, Walport M. 2009.** Immunobiología de Janeway. 7^a ed. México: McGraw-Hill interamericana. 913 p.
109. **Neutra MR, Pringault E, Kraehenbuhl JP. 1996.** Antigen sampling across epithelial barriers and induction of mucosal immune responses. Annu Rev Immunol. 14:275-300. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.14.1.275>
110. **Neutra MR, Mantis NJ, Kraehenbuhl JP. 2001.** Collaboration of epithelial cells with organized mucosal lymphoid tissues. Nat Immunol. 2(11):1004-9. <https://doi.org/10.1038/ni1101-1004>
111. **Nickel R, Schummer A, Seiferle E. 1979.** The viscera of the domestic mammals. 2^a ed. Berlin: Springer-Verlag. 430 p.
112. **Nishikawa S, Honda K, Vieira P, Yoshida H. 2003.** Organogenesis of peripheral lymphoid organs. Immunol Rev. 195:72-80. <https://doi.org/10.1034/j.1600-065x.2003.00063.x>
113. **Noden DM, Lahunta A. 1990.** Mecanismos de desarrollo y malformaciones En: Noden DM, Murillo Ferrol N. eds. Embriología de los animales domésticos. 1^a ed. Español. Zaragoza-España: Acribia.
114. **Olivera L, Zago D, Leiser R, Jones C, Bevilacqua E. 2003.** Placentation in the alpaca *Lama pacos*. Anat Embryol 207(1):45-62. <https://doi.org/10.1007/s00429-003-0328-3>

115. **Onori P, Franchitto A, Sferra R, Vetusch A, Gaudio E. 2001.** Peyer's patches epithelium in the rat: a morphological, immunohistochemical, and morphometrical study. *Dig Dis Sci.* 46(5):1095-104. <https://doi.org/10.1023/a:1010778532240>
116. **O'Rahilly R, Müller F. 2000.** Prenatal ages and stages-measures and errors. *Teratology*, 61(5), 382–384. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9926\(200005\)61:5<382::AID-TERA10>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9926(200005)61:5<382::AID-TERA10>3.0.CO;2-5)
117. **O'Rahilly R, Müller F. 2010.** Developmental stages in human embryos: revised and new measurements. *Cells tissues organs.* 192(2), 73–84. <https://doi.org/10.1159/000289817>
118. **Owen RL, Jones AL. 1974.** Epithelial cell specialization within human Peyer's patches: an ultrastructural study of intestinal lymphoid follicles. *Gastroenterology* 66(2):189-203.
119. **Pabst R, Geist M, Rothkotter HJ, Fritz FJ. 1988.** Postnatal development and lymphocyte production of jejunal and ileal Peyer's patches in normal and gnotobiotic pigs, *Immunology* 64(3):539–544
120. **Pabst R, Rothkötter HJ. 2006.** Structure and function of the gut mucosal immune system. *Adv Exp Med Biol* 579:1-14. https://doi.org/10.1007/0-387-33778-4_1
121. **Pelaseyed T, Bergström JH, Gustafsson JK, Ermund A, Birchenough GM, Schütte A, Van der Post S, Svensson F, Rodríguez-Piñeiro AM, Nyström 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. *Immunological reviews*, 260(1), 8–20. <https://doi.org/10.1111/imr.12182>
122. **Parsons KR, Bland AP, Hall GA. 1991.** Follicle associated epithelium of the gut associated lymphoid tissue of cattle. *Vet Pathol* 28(1):22-29. <https://doi.org/10.1177/030098589102800104>
123. **Pedrerá M, Sanchez PJ, Risalde MA, Molina V, Ruiz-Villamor E, Romero-Palomo F, Gomez-Villamandos F, 2009.** El tejido linfóide asociado a mucosas como blanco del virus de la diarrea vírica bovina: Estructura y evolución. *Anales Vet Univ Andalucía* 22(1):200-205.
124. **Pérez W, König HE, Jerbi H, Clauss M. 2016.** Macroanatomical aspects of the gastrointestinal tract of the alpaca (*Vicugna pacos* Linnaeus, 1758) and dromedary (*Camelus dromedarius* Linnaeus, 1758). *ZORA Vertebrate Zoology.* 66(3):419-425. http://www.senckenberg.de/root/index.php?page_id=16562&PHPSESSID=8m2mdok82b_b036ljonof1rsen5#VZ66-3
125. **Piccione G, Rizzo M, Giannetto C. 2017.** Reducing the stress response of alpacas during shearing. *The Veterinary record*, 180(23), 566–567. <https://doi.org/10.1136/vr.j2700>
126. **Piezzi RS, Fornés MW. 2006.** Nuevo atlas de histología normal de Di Fiori. 1ª ed. Buenos Aires: El Ateneo. 330 p.

127. **Pollard M, Sharon N. 1970.** Responses of the Peyer's patches in Germ-Free mice to antigenic stimulation. *Infect Immun.* 2(1):96-100. <http://dx.doi.org/10.1128/iai.2.1.96-100.1970>
128. **Qi SS, Wang WH, Gao Q, Xu XH, He WH, Zhaxi YP, Tai LF. 2011.** Age-related changes in the anatomical characteristics of Peyer's patches in small intestine of Bactrian camels (*Camelus bactrianus*). *Trop Anim Health Prod* 43(6):1219-1223. <https://doi.org/10.1007/s11250-011-9829-x>
129. **Quispe EC, Rodríguez TC, Iñiguez LR, Mueller JP. 2009.** Producción de fibra de alpaca, llama, vicuña y guanaco en Sudamérica. *Animal Genetic Resources Information*, 45: 1-14. <https://doi.org/10.1017/S1014233909990277>
130. **Reed RG. 2019.** Stress and Immunological Aging. *Current opinion in behavioral sciences*, 28, 38–43. <https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2019.01.012>
131. **Reynaud CA, Mackay CR, Muller RG, Weill JC. 1991.** Somatic generation of diversity in a mammalian primary lymphoid organ: the sheep ileal Peyer's patches, *Cell* 64:995–1005. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90323-q](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90323-q)
132. **Reynolds JD. 1987.** Peyer's patches and the early development of B lymphocytes. *Curr Top Microbiol Immunol* 135:43-56. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-71851-9_3
133. **Reynolds JD, Cahill RNP, Trnka Z. 1981.** Peyer's patches as a bursal equivalent: A new look as some old arguments. *Basic institute for Immunology* 5:265–272.
134. **Reynolds JD, Kirk D. 1989.** Two types of sheep Peyer's patches: location along gut does not influence involution. *Immunology*. 66(2): 308-311
135. **Reynolds JD, Morris B. 1983.** The evolution and involution of Peyer's patches in fetal and postnatal sheep, *Eur. J. Immunol.* 13:627–35. <https://doi.org/10.1002/eji.1830130805>
136. **Reynolds JD, Morris B. 1984.** The effect of antigen on the development of Peyer's patches in sheep. *Eur J Immunol* 14(1):1-6. <https://doi.org/10.1002/eji.1830140102>
137. **Reynolds J, Pabst R, Bordmann G. 1985.** Evidence for the Existence of Two Distinct Types of Peyer's Patches in Sheep. En: Klaus GGB, eds. *Microenvironments in the Lymphoid System*. 1ª ed. USA: Springer, MA. p 101-109.
138. **Roca LV, Manchego SA, Sandoval CN, Lam Chiok CK, Rivera GH. 2014.** Caracterización histológica y dinámica linfóide de las placas de peyer en crías de alpaca durante los 45 primeros días de vida. *Rev Inv Vet Perú.* 25(3):341-349. <https://doi.org/10.15381/rivep.v25i3.10112>
139. **Rocha B, Vassalli P, Guy-Grand D. 1994.** Thymic and extrathymic origins of gut intraepithelial lymphocyte populations in mice. *J Exp Med.* 180(2), 681–686. <https://doi.org/10.1084/jem.180.2.681>

140. **Rojas MW. 2015.** Inmunología de Rojas. 17ª ed. Colombia: Corporación de investigaciones biológicas. 280p.
141. **Rodrigues MN, Carvalho RC, Francioli AL, Rodrigues RF, Rigoglio NN, Jacob JC, Gastal EL and Miglino MA. 2014.** Prenatal development of the digestive system in the horse. *Anat Rec* 297: 297(7), 1218–1227. <https://doi.org/10.1002/ar.22929>
142. **Rosadio AR, Maturrano HL, Pérez JD, Luna EL. 2012.** El complejo entérico neonatal en alpacas andinas. *Rev Inv Vet Perú*, 23(3): 261–271. <https://doi.org/10.15381/rivep.v23i3.908>
143. **Ross H, Pawlina W. 2008.** Histología: texto y atlas color con biología celular y molecular. 5a ed. Buenos Aires: Médica Panamericana. 992 p.
144. **Rothkötter HJ. 2009.** Anatomical particularities of the porcine immune system: a physician's view. *Dev Comp Immunol.* 33(3):267-72. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2008.06.016>
145. **Rothkötter HJ, Pabst R. 1989.** Lymphocyte subsets in jejunal and ileal Peyer's patches of normal and gnotobiotic minipigs. *Immunology*. 67(1):103-8. PMID: 2786841
146. **San-Martín F, Van Saun RJ. 2014.** Feeding management systems. En: Cebra C, Anderson DE, Tibary A, Van Saun RJ, Johnson LRW, eds. *Llama and alpaca care medicine, surgery, reproduction, nutrition, and herd health*. 1ª ed. USA: Elsevier Inc. p 91 – 99.
147. **San-Martin M, Copaira M, Zuniga J, Rodreguez R, Bustinza G, Acosta L. 1968.** Aspects of reproduction in the alpaca. *J Reprod Fertil.* 16(3), 395–399. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0160395>
148. **Schmidt JE. 1959.** Medical discoveries. Who and when? 1ª ed. Springfield-Illinois: Charles C Thomas Publisher. 555p.
149. **Scudamore CL. 2014.** Gastrointestinal system. En: Scudamore CL, eds. *A practical guide to the histology of the mouse*. 1ª ed. USA: John Wiley & Sons, Ltd. p 43-61.
150. **Sminia T, Janse EM, Plesch BEC. 1983.** Ontogeny of Peyer's patches of the rat. *Anat Rec* 207(2):309-316. <https://doi.org/10.1002/ar.1092070209>
151. **Sobhon P. 1971.** The light and the electron microscopic studies of Peyer's patches in non germ-free adult mice. *J. Morphol.* 135(4):457-481. <https://doi.org/10.1002/jmor.1051350404>
152. **Spencer J, MacDonald, TT, Finn T, Isaacson PG. 1986.** The development of gut associated lymphoid tissue in the terminal ileum of fetal human intestine. *Clin Exp Immunol.* 64(3), 536–543.

153. **Stanley HF, Kadwell M, Wheeler JC. 1994.** Molecular evolution of the family Camelidae: a mitochondrial DNA study. *Proc Biol Sci.* 256(1345): 1–6.
<https://doi.org/10.1098/rspb.1994.0041>
154. **Suvarna KS, Layton C, Bancroft JD. 2018.** Bancroft's Theory and practice of histological techniques. 10^a ed. United Kingdom: Elsevier. 672 p.
155. **Taylor I. 2014.** Lymphoid and haematopoietic system. En: Scudamore CL, eds. A practical guide to the histology of the mouse. 1^a ed. USA: John Wiley & Sons, Ltd. p 149-169.
156. **Tizard I. 2009.** Inmunología veterinaria. 8^a ed. España: Elsevier. 591 p.
157. **Tresguerres JAF. 2005.** Fisiología humana. 3^a ed. México: McGraw-Hill Interamericana. 1208p
158. **Treuting PM, Dintzis SM, Montine KS. 2018.** Comparative anatomy and histology a mouse, rat, and human atlas. 2^a ed. United Kingdom: Elsevier. 573 p.
159. **Uhde AK, Lehmbecker A, Baumgärtner W, Spitzbarth I. 2017.** Evaluation of a panel of antibodies for the immunohistochemical identification of immune cells in paraffin-embedded lymphoid tissues of new- and old-world camelids. *Vet Immunol Immunopathol* 184:42-53. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2017.01.001>
160. **Van Kruiningen HJ, West AB, Freda BJ, Holmes KA. 2002.** Distribution of Peyer's patches in the distal ileum. *Inflamm Bowel Dis.* 8(3), 180–185.
<https://doi.org/10.1097/00054725-200205000-00004>
161. **Van Saun RJ. 2009.** Nutritional requirements and assessing nutritional status in camelids. *Vet Clin North Am Food Anim Pract,* 25(2), 265–279.
<https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2009.03.003>
162. **Van Saun RJ. 2008.** Effect of nutrition on reproduction in llamas and alpacas. *Theriogenology*, 70(3), 508–514. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.04.025>
163. **Van Saun RJ, Smith B B, Watrous BJ. 1996.** Evaluation of vitamin D status of llamas and alpacas with hypophosphatemic rickets. *J Am Vet Med Assoc.* 209(6), 1128–1133.
164. **Van Rees EP, Dijkstra CD, Sminia T. 1990.** Ontogeny of the rat immune system: an immunohistochemical approach. *Dev Comp Immunol.* 14(1):9-18.
[http://dx.doi.org/10.1016/0145-305x\(90\)90003-w](http://dx.doi.org/10.1016/0145-305x(90)90003-w)
165. **Vázquez G, Echevarría O. 2000.** Introducción a la microscopía electrónica aplicada a las ciencias biológicas. U66NAM, FCE, México.
166. **Vásquez M, 2021.** Ontogenia del epitelio intestinal de la alpaca (*Vicugna Pacos*). Tesis de Doctor en Medicina Veterinaria. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 432 p.
167. **Vásquez M, Lira B, Rodríguez J, Falcón N, Ocampo J, Nishida F, Zanuzzi C. 2016.** Characterization of Paneth cells in alpacas (*Vicugna pacos*, Mammalia, Camelidae). *Tissue Cell*, 48(4):383-388. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2016.04.003>

168. **Vater A, Maierl J. 2018.** Adaptive anatomical specialization of the intestines of alpacas taking into account their original habitat and feeding behaviour. *Anat Rec* 301(11):1840-1851. <https://doi.org/10.1002/ar.23863>
169. **Vater AL, Zandt E, Maierl J. 2021.** The topographic and systematic anatomy of the alpaca stomach. *Anat Rec Hoboken*. 304(9): 1999–2013. <https://doi.org/10.1002/ar.24588>
170. **Weaver DM, Tyler JW, Scott MA, Wallace LM, Marion RS, Holle JM. 2000.** Passive transfer of colostral immunoglobulin G in neonatal llamas and alpacas. *Am J Vet Res* 61(7):738-741. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2000.61.738>
171. **Wilders MM, Sminia T, Janse EM. 1983.** Ontogeny of non-lymphoid and lymphoid cells in the rat gut with special reference to large mononuclear Ia-positive dendritic cells. *Immunology*. 50(2):303-314.
172. **Wittek T, Salaberger T, Palme R, Becker S, Hajek F, Lambacher B, Waiblinger S. 2017.** Clinical parameters and adrenocortical activity to assess stress responses of alpacas using different methods of restraint either alone or with shearing. *Vet Rec*. 180(23), 568. <https://doi.org/10.1136/vr.104232>
173. **Yasuda M, Fujino M, Nasu T, Murakami T. 2004.** Histological studies on the ontogeny of bovine gut-associated lymphoid tissue: appearance of T cells and development of IgG+ and IgA+ cells in lymphoid follicles. *Dev Comp Immunol* 28(4):357–369. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2003.09.013>
174. **Yasuda M, Jenne CN, Kennedy LJ, Reynolds JD. 2006.** The sheep and cattle Peyer's patch as a site of B-cell development. *Vet Res* 37(3):401-15. <https://doi.org/10.1051/vetres:2006008>
175. **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 de Doctorado. Argentina: Univ Nacional de La Plata. 286 p.
176. **ZhaXi Y, Wang W, Zhang W, Gao Q, Guo M, Jia S. 2014.** Morphologic observation of mucosa-associated lymphoid tissue in the large intestine of Bactrian camels (*Camelus bactrianus*). *Anat Rec (Hoboken)*. 297(7):1292-301. <https://doi.org/10.1002/ar.22939>
177. **Zidan M, Pabst R. 2008.** Unique microanatomy of ileal Peyer's patches of the one humped camel (*Camelus dromedarius*) is not age-dependent. *Anat Rec (Hoboken)*. 291(8):1023-8. <https://doi.org/10.1002/ar.20697>
178. **Zidan M, Pabst R. 2009.** The microanatomy of the palatine tonsils of the one-humped camel (*Camelus dromedarius*). *Anat Rec (Hoboken)*. 292(8):1192-7. <https://doi.org/10.1002/ar.20948>

179. **Zidan M, Pabst R. 2012.** Histological, histochemical and immunohistochemical study of the lymph nodes of the one humped camel (*Camelus dromedarius*). Vet Immunol Immunopathol. 15;145(1-2):191-8. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2011.11.004>
180. **Zidan M, Pabst R. 2020.** Histological characterization of the lingual tonsils of the one humped camel (*Camelus dromedarius*). Cell Tissue Res. 380(1):107-113. <https://doi.org/10.1007/s00441-019-03135-2>

VIII ANEXOS

Anexo 1. Especímenes para el estudio ontogénico de las placas de Peyer del íleon de la alpaca

Nº	ID ¹	Sexo	Biometría				Edad (semanas)	Estudio ²
			DBP (mm)	Peso (g)	Altura (cm)	Largo (cm)		
Fetos de primer tercio de gestación								
1	F081	Macho	1.51	33	6	6	9.4	2
2	F079	Hembra	1.75	55	8	8	11.0	2
3	F117	Hembra	2.26	89	10	9	14.5	2
4	F012	Hembra	2.29	74	9	8	14.7	1
5	F077	Macho	2.56	107	10	10	16.5	2
6	F059	Hembra	2.67	228	12	11	17.2	1
7	F115	Macho	2.78	187	11	10	18.0	2
8	F011	Macho	2.91	126	9	10	18.8	1
9	F114	Macho	3.04	245	13	11	19.7	2
10	F086	Macho	3.06	304	14	16	19.9	1
11	F135	Macho	3.30	230	14	12	21.5	2
12	F056	Macho	3.32	375	14	14	21.6	1
Fetos de segundo tercio de gestación								
13	F058	Hembra	3.70	583	18	16	24.2	1
14	F132	Macho	3.71	366	17	13	24.2	2
15	F119	Hembra	3.80	400	18	15	24.6	1
16	F133	Macho	4.09	614	23	13	26.6	2
17	F111	Hembra	4.10	848	24	16	26.7	1
18	F138	Macho	4.55	1146	25	20	28.8	2
19	F127	Hembra	4.56	1278	26	21	30.0	2
20	F145	Hembra	4.80	1305	27	22	31.2	1
21	F128	Macho	4.80	1338	28	23	32.1	2
22	F064	Macho	5.00	1330	28	22	32.9	1
23	F134	Hembra	4.90	1465	30	22	34.0	3
24	F032	Hembra	5.10	2612	32	31	34.3	1
25	F111	Macho	5.27	1426	30	26	34.8	3
26	F139	Hembra	5.18	1436	29	24	34.2	2
Fetos de tercer tercio de gestación								
27	F121	Hembra	5.60	1400	31	25	36.0	2
28	F137	Hembra	5.70	1433	34	23	36.0	1

29	F125	Macho	5.78	2413	40	27	38.0	2
30	F129	Macho	5.76	1770	36	27	38.1	3
31	F135	Hembra	5.85	2075	41	27	38.4	1
32	F084	Macho	5.89	2200	41	27	39.0	2
33	F131	Hembra	5.93	2250	41	28	39.2	2
34	F130	Macho	6.09	2345	41	29	39.8	2
35	F149	Macho	6.10	2700	43	27	40.0	1
36	F020	Macho	6.24	2800	43	30	41.3	2
37	F035	Hembra	6.31	2950	44	31	41.8	2
38	F148	Hembra	6.20	3000	43	29	41.8	1
39	F144	Hembra	6.40	3350	46	31	42.4	2
40	F126	Macho	6.50	3650	52	32	43.0	3
41	F036	Hembra	6.54	3800	48	28	43.4	2
42	F147	Hembra	6.70	4080	52	34	44.4	2
43	F137	Macho	6.71	4050	50	35	44.5	1
44	F126	Hembra	6.62	3850	52	32	43.9	3
45	F014	Macho	6.92	3900	50	30	44.8	2
46	F135	Hembra	6.80	3950	51	38	45.2	3
47	F026	Hembra	6.80	4000	50	31	45.0	1
48	F143	Macho	6.85	4450	56	36	45.6	2
<i>Especímenes crías</i>								
49	C001	s/p	---	---	---	---	0 a 7 días	2
50	C002	s/p	---	---	---	---	0 a 7 días	2
51	C003	s/p	---	---	---	---	0 a 7 días	2
52	C004	s/p	---	---	---	---	0 a 7 días	2
53	C005	s/p	---	---	---	---	0 a 7 días	2
54	C006	s/p	---	---	---	---	21 a 45 días	2
55	C007	s/p	---	---	---	---	21 a 45 días	2
56	C008	s/p	---	---	---	---	21 a 45 días	2
57	C009	s/p	---	---	---	---	21 a 45 días	2
58	C010	s/p	---	---	---	---	21 a 45 días	2
<i>Especímenes adultos</i>								
59	A001	Hembra	---	---	---	---	3 a 6 años	1
60	A001	Hembra	---	---	---	---	3 a 6 años	1
61	A003	Macho	---	---	---	---	3 a 6 años	1
62	A004	Hembra	---	---	---	---	3 a 6 años	1

63	A005	Macho	---	---	---	---	3 a 6 años	1
64	A006	Hembra	---	---	---	---	3 a 6 años	1
65	A007	Hembra	---	---	---	---	3 a 6 años	1
66	A008	Macho	---	---	---	---	3 a 6 años	1
67	A009	Macho	---	---	---	---	3 a 6 años	1
68	A010	Macho	---	---	---	---	3 a 6 años	1
69	A011	Macho	---	---	---	---	3 a 6 años	2
70	A010	Macho	---	---	---	---	3 a 6 años	2
71	A011	Macho	---	---	---	---	3 a 6 años	2
72	A012	Macho	---	---	---	---	3 a 6 años	2
73	A013	Macho	---	---	---	---	3 a 6 años	2
74	A010	Macho	---	---	---	---	3 a 6 años	2
75	A011	Macho	---	---	---	---	3 a 6 años	2
76	A012	Macho	---	---	---	---	3 a 6 años	2
77	A013	Macho	---	---	---	---	3 a 6 años	2
78	A014	Macho	---	---	---	---	3 a 6 años	2
79	A015	Macho	---	---	---	---	3 a 6 años	3
80	A016	Macho	---	---	---	---	3 a 6 años	3
81	A017	Macho	---	---	---	---	3 a 6 años	3
82	A018	Macho	---	---	---	---	3 a 6 años	3

¹ ID, indica el código de los especímenes. 1-12, fetos de primer tercio de gestación. 13-26, fetos de segundo tercio de gestación. 27-48, fetos de tercer tercio de gestación. 49-58, crías. 59-82, especímenes adultos entre 3 a 6 años.

² indica el estudio particular: 1, estudio anatómico. 2, estudio histológico. 3, estudio de microscopia electrónica de barrido.

Anexo 2. Protocolo de microscopia electrónica de barrido

Conservación de muestras para microscopia electrónica.

1. Fijación de muestras en solución de Glutaraldehído por 6 horas.
2. Lavado de muestras con PBS para retirar exceso de solución fijadora.
3. Pasaje en alcohol de 50% por 15 minutos.
4. Pasaje en alcohol de 70% por 15 minutos.
5. Pasaje en alcohol de 96% por 15 minutos.
6. Pasaje en alcohol de 96% por 15 minutos.
7. Pasaje en alcohol de 100% (etanol) por 15 minutos.
8. Pasaje en alcohol de 100% (etanol) por 15 minutos
9. Mantener en refrigeración para transporte al Instituto de Ciencias Biomedicas; Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Sao Paulo - Brasil.

Procesamiento de muestras para microscopía electrónica de barrido.

10. Desecado al punto crítico. Como alternativa, se puede lavar 2x en
11. hexamethyldisilazane 10 min y dejar secar.
12. Colocar las muestras sobre soportes de microscopio electrónico de barrido utilizando adhesivo de doble carbono.
13. Recubrimiento metálico con oro en atmósfera de Argon.
14. Visualizar y fotografiar en un microscopio electrónico de barrido en el Instituto de Ciencias Biomedicas; Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Sao Paulo - Brasil.