

GALOTTA, J.
Lectinhistoquímica d

62722



2006

62722

Universidad Nacional de Río Cuarto

Facultad de Agronomía y Veterinaria

Maestría en Anatomía y Fisiología Veterinaria

TESIS

**Lectinhistoquímica del epitelio intestinal en los
mamíferos domésticos.**

**Estudio comparativo entre el equino, el cerdo y el
conejo.**

M. V. Jorge M. Galotta

Director: Dr. Claudio Barbeito

2006

62722

62722

MFN:
Clasif:
T-447

ÍNDICE

	Página
INTRODUCCIÓN	1
- Lectinas	1
- Epitelio intestinal	8
- Patrón de unión a lectinas en el epitelio intestinal	11
OBJETIVO	13
MATERIAL y MÉTODOS	14
- Toma de muestras	14
- Procesado del material	15
- Técnicas histológicas tradicionales	15
- Estudio lectinhistoquímico	15
RESULTADOS	18
- Yeyuno de equino	18
- Yeyuno de cerdo	23
- Yeyuno de conejo	27
- Íleon de equino	32
- Íleon de cerdo	37
- Íleon de conejo	42
- Colon de equino	47
- Colon de cerdo	51
- Colon de conejo	56
- Recto de equino	60
- Recto de cerdo	65
- Recto de conejo	70
DISCUSIÓN y CONCLUSIONES	75
BIBLIOGRAFÍA	88
Lugar de trabajo	99
Agradecimientos	99

LISTADO DE ABREVIATURAS

ASGPR: receptor de asialoglicoproteína.

CD – MPR: receptor de manosa6-fosfato dependiente de calcio.

CRP: proteína reactiva C.

gal: galactosa.

galNAc: N-acetilgalactosamina.

GCs: glicoconjugados.

glc: glucosa.

glcNAc: N-acetilglucosamina.

Man: manosa.

Neu5Ac: N-acetilneuroamínico.

RE: retículo endoplasmático.

1

INTRODUCCIÓN

Lectinas

Las lectinas, originalmente denominadas hemoaglutininas, son proteínas que se hallan en todo tipo de organismos. Su importancia en histoquímica reside en la afinidad que poseen para unirse específicamente con los monosacáridos de los glicoconjugados (Sharon y Lis, 1972). Por ello son utilizadas, formando complejos con fluorocromos como fluoresceína y rodamina o con enzimas como la peroxidasa o la fosfatasa alcalina, que permiten demostrar la presencia de glúcidos unidos a proteínas o a lípidos en los tejidos animales (Brown y Hunt, 1978). Dado que los carbohidratos son relativamente resistentes a la fijación histológica, las lectinas constituyen poderosas herramientas en el diagnóstico histoquímico (Goldstein y Hayes, 1978; Gimeno y Barbeito, 2004).

Los glicoconjugados (GCs) son compuestos formados por la unión entre mono, oligo o polisacáridos y lípidos o proteínas (Stryer, 1995). Es posible, entonces, dividirlos por el residuo no carbohidrato en glicolípidos y glicoproteínas. La parte carbohidrato del glicoconjugado es el glicano (figura 1).

Los glicolípidos siempre quedan anclados en las membranas celulares; las glicoproteínas, en cambio, pueden ser tanto componentes de las membranas, como moléculas secretadas hacia el espacio intercelular o hacia la

circulación. En ocasiones se presentan como constituyentes solubles en el núcleo o en el citosol (Taylor y Drickamer, 2003).

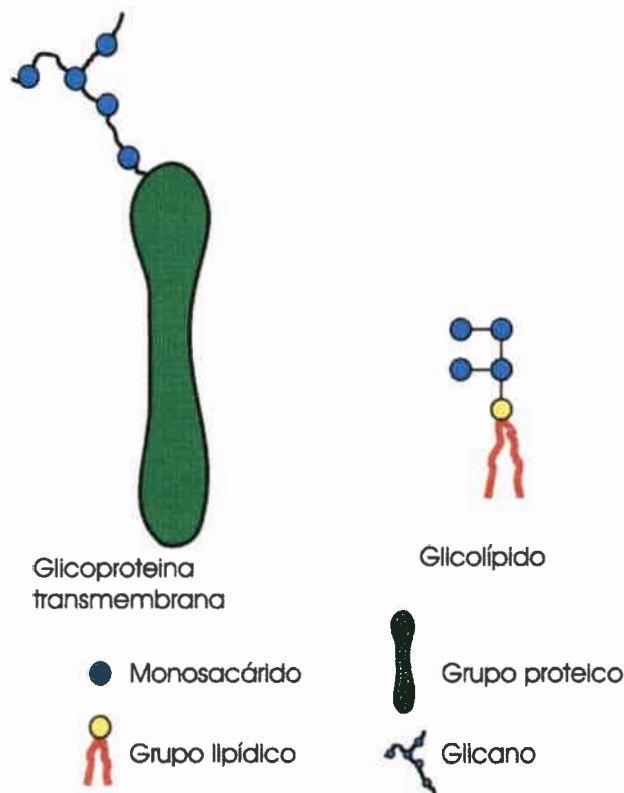


Figura 1: esquema de las moléculas de los glicoconjugados. En base a Stryer (1995).

Durante la síntesis celular del glicano los monosacáridos se unen entre sí por enlaces entre el grupo hemiacetalico de un ciclo y cualquier -OH de otro carbohidrato; este tipo de unión se denomina glicosídica. Tras el enlace queda un aldehído libre que constituye el extremo reductor (De Robertis y Hib, 2004).

Los carbohidratos que se van polimerizando están unidos a nucleótidos difosfato, como uridin-difosfato (UDP) o guanosa-difosfato (GDP). El nucleótido aporta la energía para el enlace. La unión es catalizada por enzimas del grupo de las glicosiltransferasas. Estas enzimas se localizan en la

membrana del retículo endoplasmático (RE) y del complejo de Golgi (Alberts et al., 1996).

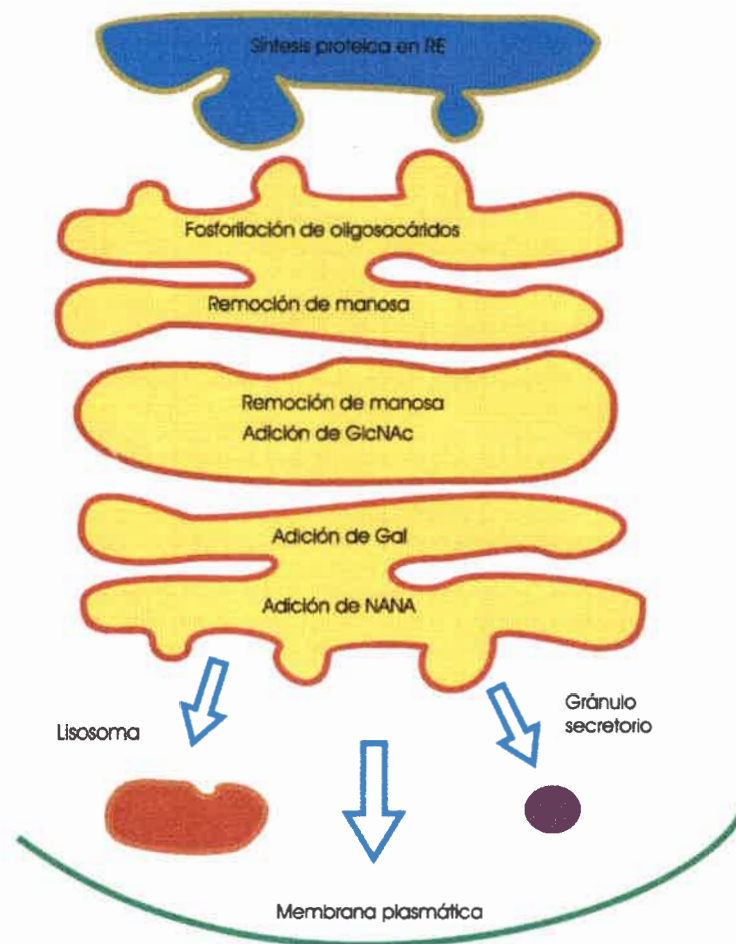


Figura 2: esquema de los pasos celulares en la síntesis de los GCs. La síntesis comienza en el retículo endoplasmático y, luego de varios pasos enzimáticos en el complejo de Golgi, pasan a formar parte de los lisosomas, de la membrana plasmática o de los gránulos secretorios. Adaptado de De Robertis y Hib (2004).

La acción secuencial de las glicosiltransferasas construye el glicano sin la existencia de un molde previo, a diferencia de lo que ocurre con los ácidos nucleicos o las proteínas, generados siempre a partir de un molde de ácido nucleico (figura 2).

Desde la luz del RE los glicoconjugados en formación pasan por los distintos compartimentos del aparato de Golgi, en donde las glicosiltransferasas van modificando los glicanos, dando origen a sus distintos tipos (Taylor y Drickamer, 2003).

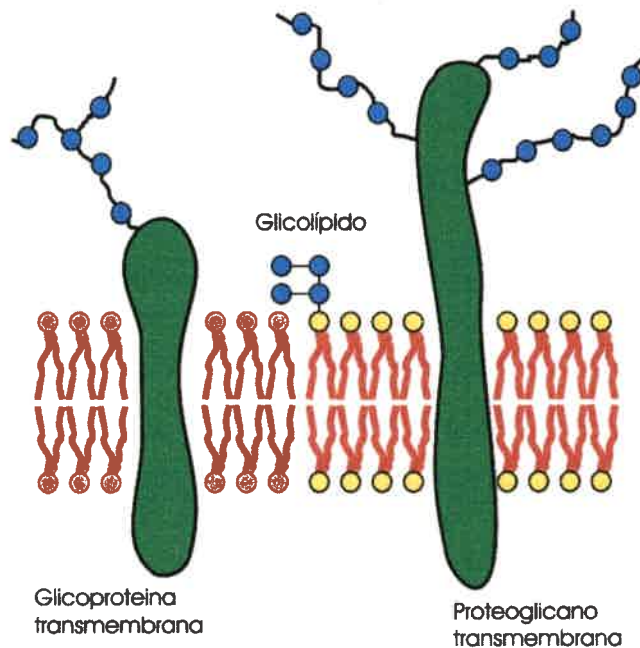


Figura 3: esquema de la membrana plasmática que muestra las moléculas lipídicas formando una bicapa y las proteínas integrales unidas a carbohidratos. Entre ambas proteínas está representado un glicolípido de membrana. Adaptado de Alberts et al. (1996).

Finalmente, algunas glicoproteínas se secretan, otras quedan formando parte de la membrana de los orgánulos o en la luz de lisosomas y endosomas. Una parte de las glicoproteínas y la totalidad de los glicolípidos pasan a ser constituyentes de la membrana plasmática, con la cadena de carbohidrato situada en la superficie externa de la célula (figura 3).

De los párrafos anteriores se desprende que los sitios celulares en los que las lectinas permiten reconocer GCs son: la membrana plasmática, los

gránulos secretorios, los lisosomas y las cisternas del complejo de Golgi (Spicer y Schulte, 1992).

Tradicionalmente se reconoce al Dr. Hermann Stillmark, de la Universidad de Dorpat (actualmente Tartu, Estonia), como el primer científico que describió las propiedades aglutinantes de una lectina, en 1888. Se trataba de la ricina, extraída de las semillas de *Ricinus communis* (Stillmark, 1888). Sin embargo, con anterioridad, en 1860, se había determinado la capacidad de aglutinación de ciertos venenos de víboras, efecto causado por la presencia de lectinas (Kilpatrick, 2002). Así, el término aglutinina fue ampliamente usado para describir sustancias que causaban aglutinación de eritrocitos y de otras células (Bog-Hansen, 1980).

La concanavalina (CON A) fue la primera lectina aislada en forma pura. En 1919 Sumner la obtuvo a partir de las semillas de una leguminosa, la *Canavalia ensiformes* (judía, frijol) (Sumner, 1919). Varios años más tarde el mismo autor demostró sus propiedades hemoaglutinantes (Sumner y Howell, 1936; Sumner, 1946).

Recién en la década de 1950, se designó con el término "lectina" a las sustancias de origen vegetal que reconocen y distinguen los distintos grupos sanguíneos basados en los carbohidratos que expresan (Boyd y Shapleigh, 1954).

La existencia de lectinas en los animales fue descubierta a comienzos del siglo XX por el hallazgo de una aglutinina en la hemolinfa del cangrejo de herradura *Xiphosura polyphemus* (Barondes, 1981). Posteriormente, en 1974,

Stockert, Morell y Scheinberg aislaron una aglutinina en el hígado del conejo que es hemoaglutinante para eritrocitos humanos y de conejo. Esta "mammalian hepatic lectin" (lectina hepática de mamífero), como fue denominada por sus descubridores, reclama el mérito de ser la primera lectina de origen mamífero descripta. Sin embargo, en un trabajo previo de Ashwell y colaboradores se daban las bases para el hallazgo del receptor de asialoglicoproteína, ASGPR, en el hígado (Gabius, 1991; Varki, 1999).

No obstante, es justo aclarar que en el pasado ya se habían demostrado las propiedades aglutinantes de muchas sustancias, hoy consideradas lectinas, tanto de origen vegetal como animal, incluyendo las de origen mamífero. Pero estos hallazgos fueron descriptos originalmente en otro contexto, en general como el principio activo de distintas plantas tóxicas o de diferentes venenos animales (Kilpatrick, 2000).

Las lectinas se unen a los carbohidratos mediante múltiples interacciones no covalentes, que incluyen puentes de hidrógeno, puentes salinos, interacciones hidrofóbicas y fuerzas de van del Waals. Pese a que las bases fisicoquímicas son las mismas, estas uniones no son de tipo inmune (Barbeito **et al.**, 2004).

La capacidad que poseen las lectinas para unirse específicamente a los grupos carbohidrato de los GCs, fue aplicada en el desarrollo de la técnica de lectinohistoquímica para el estudio de la distribución de estos compuestos en los tejidos animales.

Las lectinas pueden ser divididas en familias teniendo en cuenta su origen. Otra forma de agruparlas es considerar el glúcido al que se unen. La tabla 1 resume esta información. Un tercer modo de clasificarlas es por la estructura química. Así, la mayor parte de las lectinas pertenece a una de estas tres clases: a) simple, b) en mosaico y c) supramoléculas (Ambrosi *et al.*, 2005).

Tabla 1: familias de lectinas. Adaptado de Ambrosi *et al.* (2005).

Lectina	Familia	Glúcido al que se une
1) Origen vegetal*:		
WGA (<i>Triticum vulgare</i>)	<i>Gramineae</i>	(GlcNAc) ₁₋₃ , Neu5Ac
RCA (<i>Ricinus communis</i>)	<i>Euphorbiaceae</i>	Gal
PHA (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	<i>Leguminosae</i>	Desconocido
PNA (<i>Arachis hypogaea</i>)	<i>Leguminosae</i>	Gal, Galβ3GalNAcα
SBA (<i>Glycine max</i>)	<i>Leguminosae</i>	Gal / GalNAc
PSA (<i>Pisum sativum</i>)	<i>Leguminosae</i>	Man / Glc
LCA (<i>Lens culinaris</i>)	<i>Leguminosae</i>	Man / Glc
GNA (<i>Galanthus nivalis</i>)	<i>Amarylidaceae</i>	Man
DBA (<i>Dolichus biflorus</i>)	<i>Leguminosae</i>	GalNAcα3GalNAc, GalNAc
STA (<i>Solanum tuberosum</i>)	<i>Solanaceae</i>	(GlcNAc) _n
Con A (<i>Canavalia ensiformes</i>)	<i>Leguminosae</i>	Man / Glc
2) Origen animal:		
ASGPR	Tipo C	Gal
Galectina - 3	Tipo S	Gal
Sialoadhesina	Tipo I	Neu5Ac
CD - MPR	Tipo P	Man6P
CRP	Pentraxinas	Gal, Gal6p, ácido galacturónico

* Entre paréntesis se indica el nombre científico de la planta de la cual se obtiene la lectina.

Las lectinas simples están formadas por un pequeño número de subunidades, no siempre idénticas, cada una con un peso molecular inferior a

los 40 kDa. Cada monómero presenta un sitio de unión para el glucósido. Este grupo comprende prácticamente a todas las lectinas conocidas de origen vegetal y los principales miembros de la familia de las galectinas, también conocidas como S-lectinas, de origen animal.

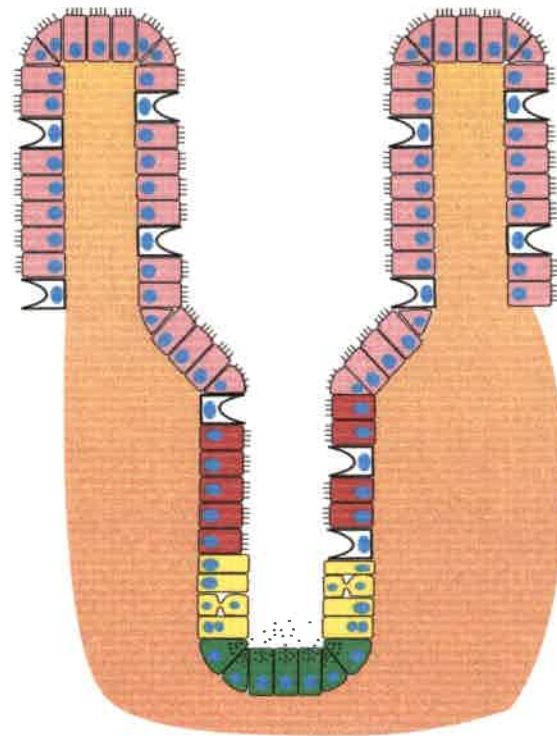
Las lectinas en mosaico son moléculas compuestas con varios dominios proteicos, uno solo de los cuales posee el sitio de unión a glúcidos. Son ejemplos de esta clase las hemaglutininas virales y las lectinas tipos C, I y P de origen animal.

El tercer grupo de lectinas está constituido por estructuras supramoleculares de presencia común en las bacterias. Se presentan como una estructura filamentosa formada por unidades agregadas en forma helicoidal.

Epitelio intestinal

El epitelio de la mucosa del intestino está formado por distintos tipos celulares. Cada uno de ellos tiene una función específica. Los enterocitos participan en los fenómenos de digestión y absorción. Las células caliciformes secretan el mucus que protege a la mucosa. Las células de Paneth forman parte del sistema inmune inespecífico. Las células enteroendocrinas secretan sustancias reguladoras de la actividad intestinal (Ross **et al.**, 1997).

En el epitelio de las criptas intestinales ocurren procesos de proliferación, diferenciación y muerte celular. Cerca de la base de la cripta se encuentran células madre con activa proliferación (Leblond, 1981).








-  Células madre (stem cell)
-  Enterocitos maduros de las vellosidades
-  Enterocitos maduros de las criptas
-  Células de Paneth
-  Células caliciformes

Figura 4: esquema de la ubicación de los diferentes tipos celulares en la unidad cripta-vellosidad. Las células madre dan origen a los otros tipos celulares. Ellos se desplazan desde la zona de proliferación hacia el vértice de la vellosidad o hacia el fondo de la cripta. En base a de Santa Bárbara **et al.**, 2003.

Desde allí, su descendencia, también con alta capacidad proliferativa, sigue dos caminos (de Santa Bárbara **et al.**, 2003). Las células que darán origen a las células absortivas, a las caliciformes y a las enteroendocrinas migran hacia el vértice de la vellosidad. Otras, las que darán origen a las

células de Paneth, se desplazan a las regiones más profundas de la cripta intestinal (figura 4).

Algunas de las células que se van desplazando hacia el vértice de la vellosidad intestinal se diferencian en enterocitos. En un plazo de 2 a 5 días alcanzan el punto más alto de la vellosidad, donde se perderán por descamación.

La elevada proliferación en las criptas determina que también exista en ellas un alto índice de muerte celular, para eliminar las células que posean modificaciones en su material genético (González *et al.*, 2000; González *et al.*, 2005).

A medida que las células ocupan posiciones más altas en el eje cripta-vellosidad se observa en ellas una diferenciación funcional. Por ejemplo, los enterocitos de las criptas poseen la capacidad de secretar agua y electrolitos hacia la luz intestinal por la presencia de una bomba de Na^+/Cl^- en la membrana apical. Los enterocitos de la vellosidad no realizan esta función porque la bomba celular se halla en la membrana basolateral. Así, se describen fisiológicamente enterocitos de las criptas y enterocitos de las vellosidades (Ruckebusch *et al.*, 1994; García Sacristán *et al.*, 1995; Cunningham, 1997; Cingolani y Houssay, 2000).

Las células de Paneth, uno de los linajes celulares en el epitelio intestinal, se ubican en la base de la cripta y presentan gránulos secretorios en el citoplasma apical. Estos gránulos contienen péptidos antimicrobianos que forman parte de una familia de defensinas (α -defensinas) (Lehrer y Ganz,

2002). Las células de Paneth secretan el contenido de estos gránulos cuando son expuestas a las bacterias o a sus antígenos; formando parte del sistema inmune inespecífico de un animal (Oullette, 1997; Ayabe **et al.**, 2004).

Los procesos de diferenciación, proliferación y muerte celular iniciados en las criptas determinan las funciones del intestino (de Santa Bárbara **et al.**, 2003).

Patrón de unión a lectinas en el epitelio intestinal

En el epitelio intestinal existe un patrón de distribución para la unión de lectinas con los GCs que fue descrito en algunas especies como el hombre (Vecchi **et al.**, 1987) y la rata (Freeman **et al.**, 1980).

Las investigaciones iniciales sobre el epitelio intestinal en la rata demostraron que la técnica de lectinohistoquímica permite detectar diferencias entre los GCs de distintos sectores del eje cripta-vellosidad y de diferentes regiones del intestino (eje craneo-caudal). Metodologías similares fueron aplicadas en el tracto gastrointestinal del hombre (Walker, 1988) y en el colon de cobayo (Gorelick **et al.**, 1982) y en este caso las lectinas se unieron en forma diferente a los distintos tipos celulares. El patrón de distribución de GCs se modifica al ir diferenciándose los enterocitos y las otras poblaciones celulares desde la cripta de Lieberkühn (Danguy **et al.**, 1988; Doehrn **et al.**, 1992).

En el cerdo, se han descrito cambios en el patrón de lectinas entre distintas regiones del intestino delgado y, también, entre distintos grupos

etarios (Jaeger *et al.*, 1989; Gelberg *et al.*, 1992; Chae y Lee, 1995; Barbeito *et al.*, 2003) o con distintas dietas (More *et al.*, 1987; Brown *et al.*, 1991).

Además, existen modificaciones del patrón de unión a lectinas de las células en diferentes enfermedades. Está demostrado que la estructura de los glicanos de las membranas celulares se modifica en la inflamación y en los tumores (Dube y Bertozzi, 2005). De este modo, en el tubo gastrointestinal se describieron cambios en tumores de estómago y de intestino (Fischer *et al.*, 1983; Danguy *et al.*, 1998) y en la enfermedad de Crohn (Cooper *et al.*, 1987). En los animales domésticos se estudiaron estas variaciones en las enteropatías proliferativas del cerdo (Riganti *et al.*, 1997), en la enterotoxemia del conejo (Jelinek, 1996) y en la paratuberculosis del bovino (Massone *et al.*, 1991).

A pesar de los trabajos citados previamente, no encontramos en la bibliografía estudios comparativos sobre el patrón de unión a lectinas en el epitelio del intestino delgado y del intestino grueso del equino, del cerdo y del conejo.

Teniendo en cuenta la existencia de características anatómicas comunes en el tubo gastrointestinal, se puede especular que el patrón de distribución de GCs, en el epitelio intestinal de las especies a analizar, es semejante al comparar el mismo segmento del intestino en distintos animales. No obstante, los hábitos alimentarios son diferentes y la fisiología gastrointestinal tiene características propias en cada uno de ellos, lo que a su vez podría generar algunas variantes en el patrón de glicanos.

2

OBJETIVO

El objetivo de este trabajo es caracterizar y comparar la expresión de los carbohidratos de la membrana y del citoplasma de las células del epitelio intestinal del equino, del cerdo y del conejo, utilizando la técnica de la lectinhistoquímica.

3

MATERIAL Y MÉTODOS

Toma de muestras

Las muestras fueron obtenidas de material de frigorífico (cerdos y equinos), y de animales sacrificados a tal fin (conejos).

La tabla 2 resume la información sobre los órganos estudiados.

Tabla 2: criterio para la obtención de las muestras.

Órgano	Región estudiada
Yeyuno	Tercio medio, borde antimesentérico.
Íleon	Porción terminal, borde antimesentérico.
Colon ascendente	Flexura central, borde antimesentérico.
Recto	Porción inicial, borde antimesentérico.

Los animales eran adultos, de sexo masculino y clínicamente sanos. Los equinos eran de raza mestiza, de 6 a 7 años de edad y alimentados en base a pasturas. Los cerdos eran híbridos comerciales, de 6 meses de edad, con un peso de 100 a 110 kg y alimentados con una ración estándar para engorde de porcinos. Los conejos eran de raza neocelandesa, de tres meses de edad y alimentados con una ración para mantenimiento de conejos en base a alfalfa. Para cada órgano se estudiaron diez animales ($n = 10$) de cada especie seleccionados por el aspecto anatómico normal del intestino.

Procesado del material

Las muestras de los distintos órganos fueron fijadas en formol tamponado al 10%. El tiempo de fijación varió de 48 a 72 horas.

A continuación, las muestras fueron procesadas según la técnica tradicional de inclusión en parafina. Una vez obtenidos los tacos, se efectuaron cortes de $4 \pm 1 \mu\text{m}$ de espesor con micrótopo de deslizamiento.

Todas las muestras fueron sujetas a las técnicas que se enumeran a continuación

Técnicas histológicas tradicionales

a) *Hematoxilina – eosina*: con esta técnica clásica se determinaron las características generales de los órganos a estudiar.

b) *Ácido periódico - reactivo de Schiff (PAS) con contraste de hematoxilina*: con esta técnica histoquímica se evidenció la presencia de carbohidratos.

Las técnicas enunciadas se realizaron según el procedimiento descrito en la bibliografía (Martoja y Martoja, 1970; Prophet **et al.**, 1995).

Estudio lectinhistoquímico

La lectinhistoquímica permite localizar, identificar y distinguir con gran sensibilidad y especificidad diferencias en la secuencia de los carbohidratos en las células. Además, la lectinhistoquímica posee un nivel de especificidad mayor que otras técnicas utilizadas para determinar glúcidos como el PAS o los alcianos.

En los cortes para lectinhistoquímica, se procedió a la deshidratación y bloqueo de las peroxidasas endógenas mediante metanol - H_2O_2 . Luego fueron

incubados con albúmina sérica bovina al 0,1% para bloquear uniones inespecíficas. Posteriormente se incubaron durante dos horas a temperatura ambiente con lectinas biotiniladas. Estas se emplearon diluidas al 1% en buffer PBS.

Las lectinas utilizadas fueron:

Grupo I: glucosa / manosa

CON A (*Canavalina ensiformes*).

Grupo II: N – acetilglucosamina

WGA (*Triticum vulgare*). Es específica para (GlcNAc)₁₋₃ y también une a Neu5Ac.

Grupo III: N – acetilgalactosamina / galactosa

DBA (*Dolichus biflorus*). Se une a GalNAc α 3GalNAc y GalNAc.

SBA (*Glycine maximus*). Es específica para Gal y GalNAc.

PNA (*Arachis hypogaea*). Se une con Gal y Gal β 3GalNAc α .

RCA – I (*Ricinus communis*). Es específica para galactosa.

Grupo IV: L – fucosa

UEA – I (*Ulex europeus*).

El siguiente paso de la técnica consistió en la incubación de los cortes a temperatura ambiente con el sistema ABC[®] de VECTOR LABORATORIES, que se basa en la afinidad entre la avidina y la biotina. Por último, se utilizó diaminobencidina como cromógeno revelador. La coloración de contraste se

realizó con hematoxilina. Para cada lectina se efectuaron controles negativos y positivos probados.

La observación se realizó con un microscopio Olympus binocular a 100, 400 y 1000 aumentos. La intensidad de la marcación lectinohistoquímica se evaluó mediante un sistema semicuantitativo similar al utilizado por otros autores (Cobo *et al.*, 2004), con las siguientes categorías: negativo (-), levemente positivo (+), positivo (++) y fuertemente positivo (+++).

4

RESULTADOS

YEYUNO DE EQUINO

En la tabla 3 se resume la información sobre los resultados.

Técnica de PAS

Se observa la tinción del glicocálix, del citoplasma de los enterocitos y, con un color más intenso, el contenido de las células caliciformes.

Lectinhistoquímica

CON A: se evidencia el glicocálix (+++) y el citoplasma de los enterocitos (++) que tapizan la vellosidad intestinal. Se marca el citoplasma de los enterocitos de la cripta (+). No se evidencian las células caliciformes con esta lectina. Figuras 5 - A; 5 - B.

WGA: esta lectina marca el glicocálix en la cripta (++) y en la vellosidad (+++). También se fija en el citoplasma de los enterocitos de la cripta (++) y de la vellosidad (+). Se evidencian algunas células caliciformes (+). Figura 5 - C; 5 - D.

DBA: se observa marcación en el glicocálix de las células de la cripta (++) y de la vellosidad (+++). El citoplasma de los enterocitos se evidencia más en la cripta (++) que en la vellosidad intestinal (+). En las células caliciformes también existe marcación (++) . Figuras 5 - E; 5 - F.

SBA: se visualiza unión en el citoplasma de los enterocitos, que es más manifiesta en las células de la cripta intestinal (+++) que en la vellosidad (+). No se evidencia el glicocálix en la vellosidad, pero si en el de la cripta (++) . Las células caliciformes marcan en forma desigual, algunas se evidencian (++) y otras no (-). Figura 6 - A.

PNA: se observa marcación en el glicocálix (++) y en el citoplasma (++) de los enterocitos de la cripta intestinal. No se evidencia marcación en el glicocálix y en el citoplasma de los enterocitos de la vellosidad. Algunas células caliciformes presentan una imagen finamente granulada (++) . Figura 6 - B.

RCA – I: se evidencia el glicocálix (++) y el citoplasma de los enterocitos de la cripta (++) . También se produce unión en el glicocálix (+++) y el citoplasma de los enterocitos de la vellosidad (+/-), este último se observa de aspecto granuloso. Se marca el contenido de las células caliciformes y las membranas de las vesículas secretorias (+++). Figuras 6 - C; 6 - D.

UEA – I: se evidencian las células caliciformes (+++) y el glicocálix de los enterocitos de la vellosidad. Figuras 6 - E; 6 - F.

Tabla 3: resultados de la técnica de PAS y lectinhistoquímica en el epitelio del yeyuno del equino.

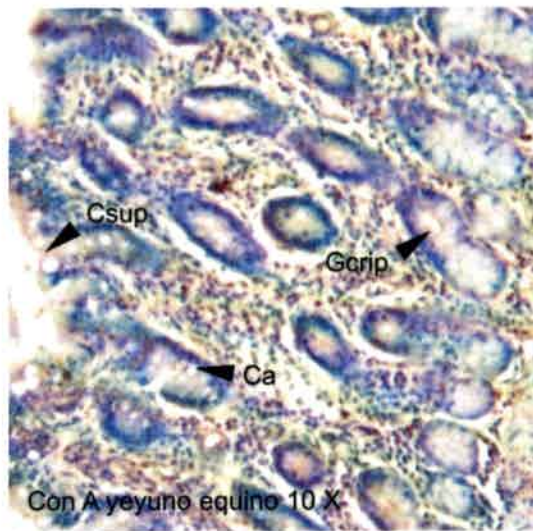
	Glicocálix enterocito cripta	Citoplasma enterocito cripta	Glicocálix enterocito vellosidad	Citoplasma enterocito vellosidad	Caliciformes
PAS	+++	++	+++	++	+++
CON A	-	+	+++	++	-
WGA	++	++	+++	+	+
DBA	++	++	+++	+	++
SBA	++	+++	-	+	++ ¹
PNA	++	++	-	-	++ ¹
RCA - I	++	++	+++	+	+++
UEA - I	-	-	+	-	+++

1 - Se marcan de manera desigual, solo algunas son positivas.

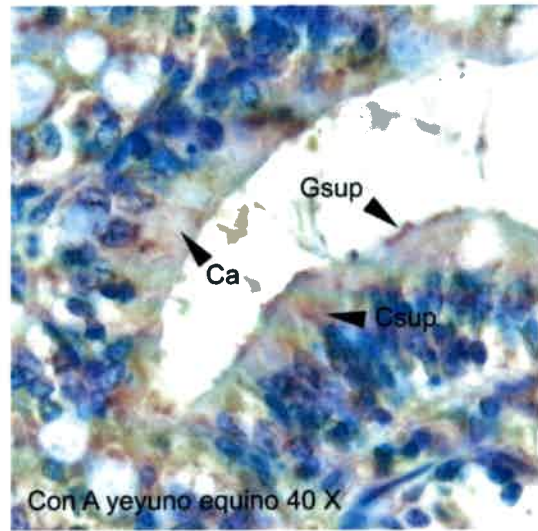
Figura 5: microfotografía de la mucosa del yeyuno del equino. A: Marcación con lectina CON A 10 X. B: Marcación con lectina CON A 40 X. C: Marcación con lectina WGA 10 X. D: Marcación con lectina WGA 40 X. E: Marcación con lectina DBA 10 X. F: Marcación con lectina DBA 40 X. Referencias: **Ccrip**: citoplasma del enterocito de la cripta; **Gcrip**: glicocáliz del enterocito de la cripta; **Csup**: citoplasma del enterocito de la vellosidad; **Gsup**: glicocáliz del enterocito de la vellosidad; **Ca**: célula caliciforme.

Figura 6: microfotografía de la mucosa del yeyuno del equino. A: Marcación con lectina SBA 10 X. B: Marcación con lectina PNA 10 X. C: Marcación con lectina RCA - I 10 X. D: Marcación con lectina RCA - I 40 X. E: Marcación con lectina UEA - I 10 X F: Marcación con lectina UEA - I 40 X. Referencias: **Ccrip**: citoplasma del enterocito de la cripta; **Gsup**: glicocáliz del enterocito de la vellosidad; **Ca**: célula caliciforme.

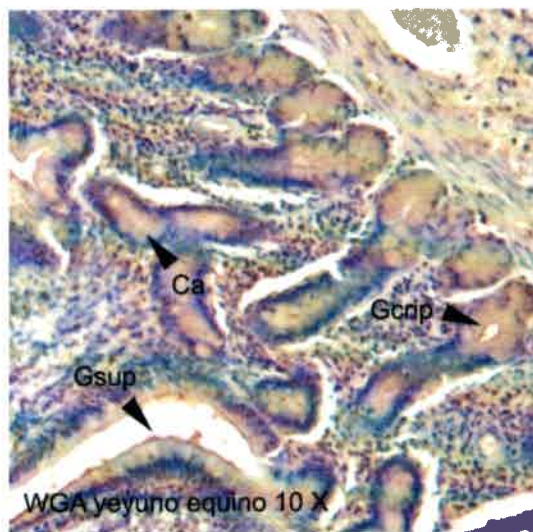
FIGURA 5



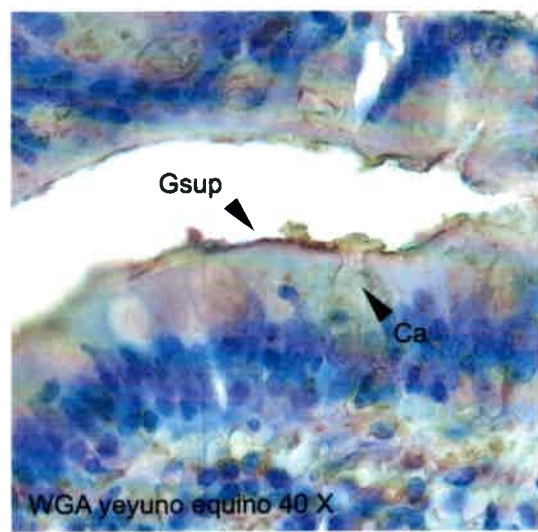
A



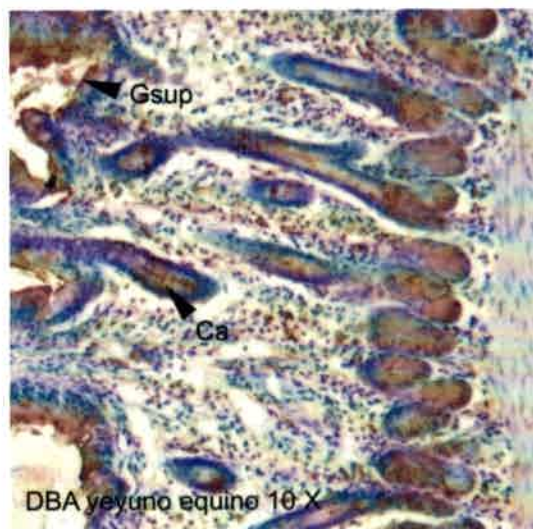
B



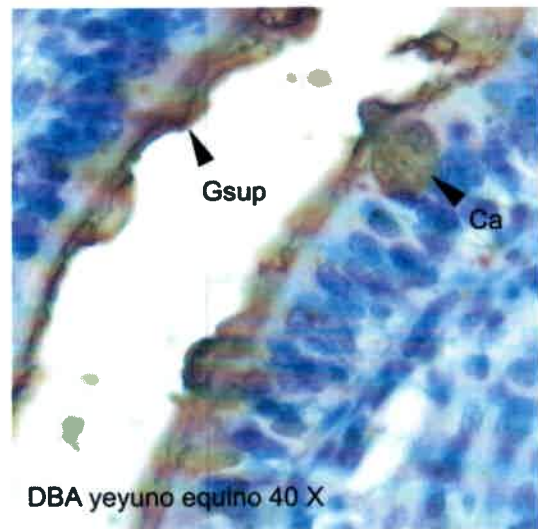
C



D

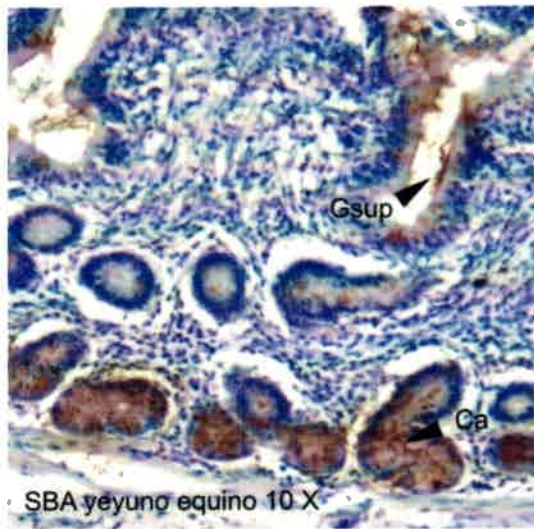


E

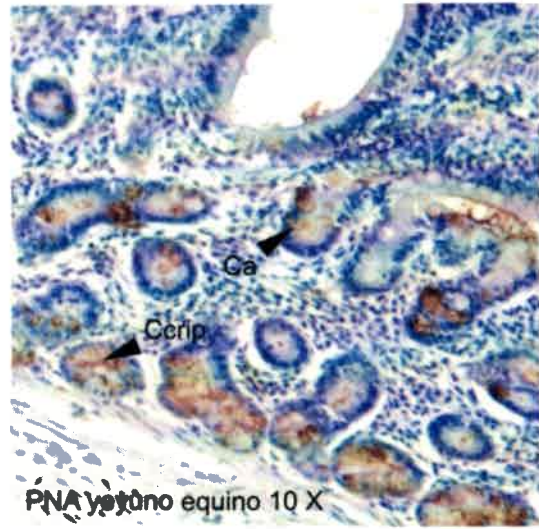


F

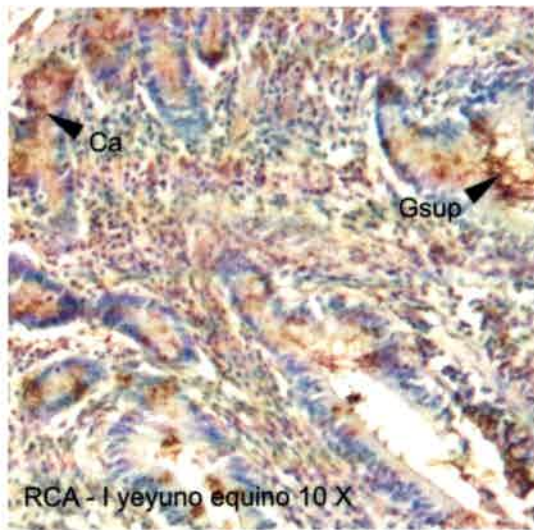
FIGURA 6



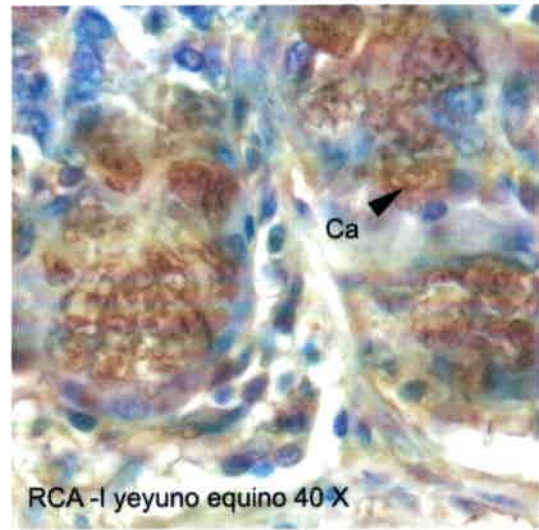
A



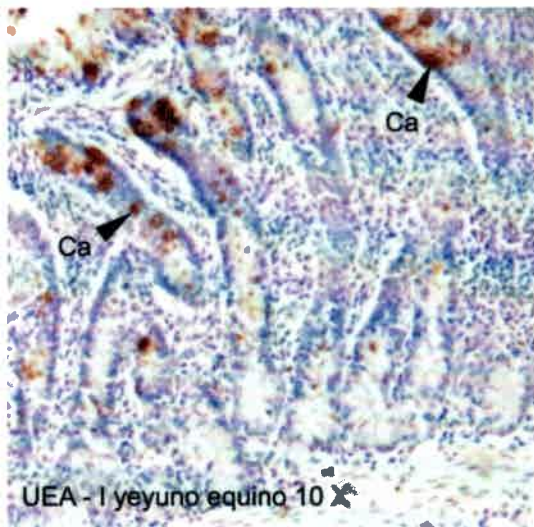
B



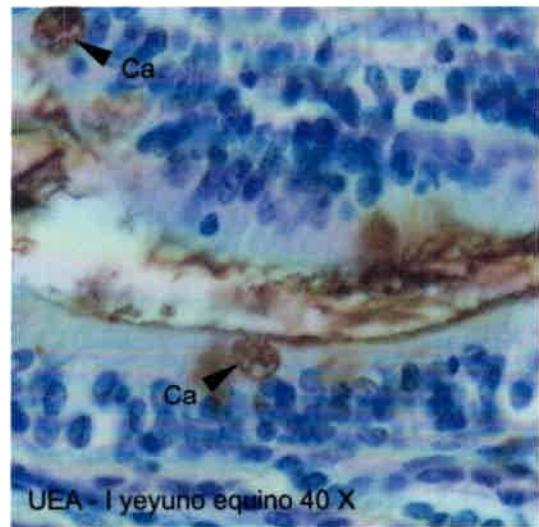
C



D



E



F

YEYUNO DE CERDO

La tabla 4 resume la información sobre los resultados de estas técnicas.

Técnica de PAS

La tinción de PAS es positiva, existiendo coloración en el glicocáliz, del citoplasma de los enterocitos y del contenido de las células caliciformes.

Lectinhistoquímica

CON A: se evidencia el glicocáliz de las células de la cripta (+) y de la vellosidad (++) . Además se marca el citoplasma de los enterocitos de la cripta (+). Figura 7 - A; 7 - B.

WGA: esta lectina marca el glicocáliz de la cripta (+) y de la superficie (++) , y el citoplasma de los enterocitos de la cripta (+) y de la vellosidad (+). Las células caliciformes se evidencian en forma desigual, algunas se observan con mayor intensidad (++) que otras (+). Figuras 7 - C; 7 - D.

DBA: se observan escasas células caliciformes (+) marcadas. Figuras 7 - E; 7 - F.

SBA: se visualiza el glicocáliz de los epitelios de la cripta (++) y de la superficie (++) con la misma intensidad. Se marca el citoplasma de los enterocitos de la cripta (+) y las células caliciformes (++) con sus vesículas secretorias. Figuras 8 - A; 8 - B.

PNA: se observa marcación en el glicocáliz (+) y en el citoplasma de los enterocitos de la cripta (++) . En este último caso, las estructuras marcadas son gránulos situados en la parte apical del citoplasma. Además, la unión con la

lectina se evidencia en la región supranuclear del citoplasma de los enterocitos de la vellosidad (++) . Figuras 8 - C; 8 - D.

RCA - I: se evidencia el glicocálix de los epitelios de la cripta (+) y de la vellosidad (+). Algunas células caliciformes (+) también se marcan. Figura 8 - E.

UEA - I: se observan algunas células caliciformes positivas (++) . Figura 8 - F.

Tabla 4: resultados de la técnica de PAS y lectinohistoquímica en el epitelio del yeyuno del cerdo.

	Glicocálix enterocito cripta	Citoplasma enterocito cripta	Glicocálix enterocito vellosidad	Citoplasma enterocito vellosidad	Caliciformes
PAS	+++	++	+++	++	+++
CON A	+	+	++	-	-
WGA	+	+	++	+	+ / +++ ¹
DBA	-	-	-	-	+ ²
SBA	++	+	++	-	++
PNA	+	++ ³	-	++ ⁴	-
RCA - I	+	-	+	-	+
UEA - I	-	-	-	-	++

1 - La marcación es desigual, algunas células caliciformes se evidencian más intensamente que las otras.

2 - El número de caliciformes marcado es escaso.

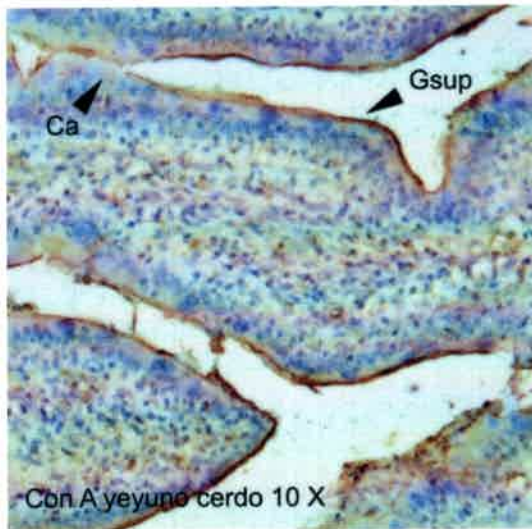
3 - Se evidencian gránulos en el citoplasma apical de los enterocitos.

4 - La marcación es supranuclear.

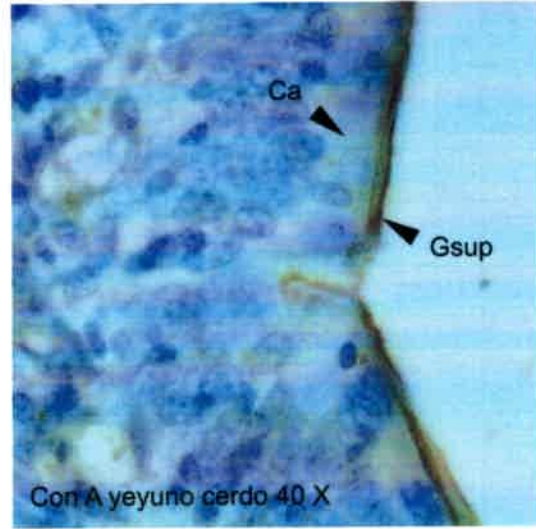
Figura 7: microfotografía de la mucosa del yeyuno del cerdo. A: Marcación con lectina CON A 10 X. B: Marcación con lectina CON A 40 X. C: Marcación con lectina WGA 10 X. D: Marcación con lectina WGA 40 X. E: Marcación con lectina DBA 10 X. F: Marcación con lectina DBA 40 X. Referencias: **Csup:** citoplasma del enterocito de la vellosidad; **Gsup:** glicocálix del enterocito de la vellosidad; **Ca:** célula caliciforme.

Figura 8: microfotografía de la mucosa del yeyuno del cerdo. A: Marcación con lectina SBA 10 X. B: Marcación con lectina SBA 40 X. C: Marcación con lectina PNA 10 X. D: Marcación con lectina PNA 40 X. E: Marcación con lectina RCA - I 40 X. F: Marcación con lectina UEA - I 40 X. Referencias: **Ccrip:** citoplasma del enterocito de la cripta; **Gcrip:** glicocálix del enterocito de la cripta; **Csup:** citoplasma del enterocito de la vellosidad; **Gsup:** glicocálix del enterocito de la vellosidad; **Ca:** célula caliciforme.

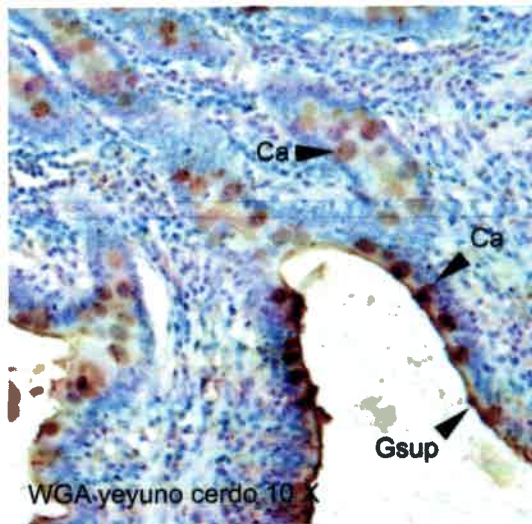
FIGURA 7



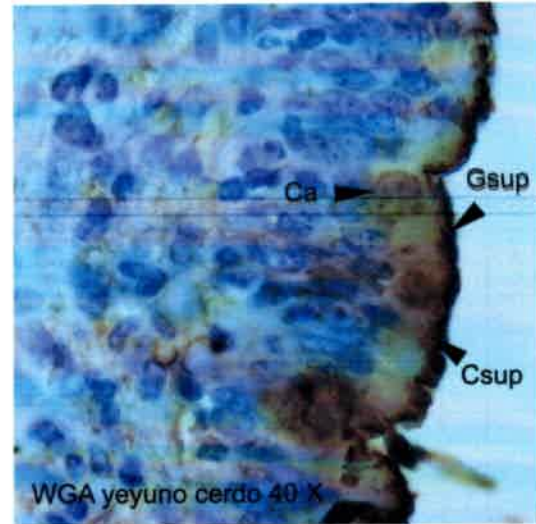
A



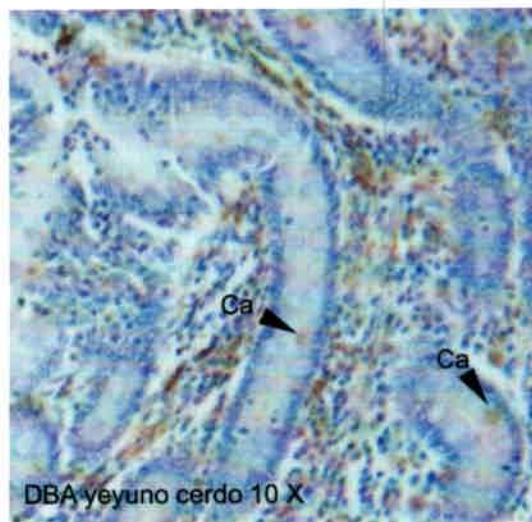
B



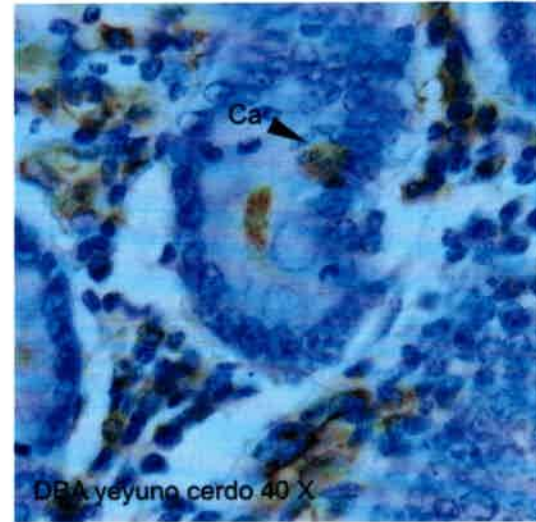
C



D

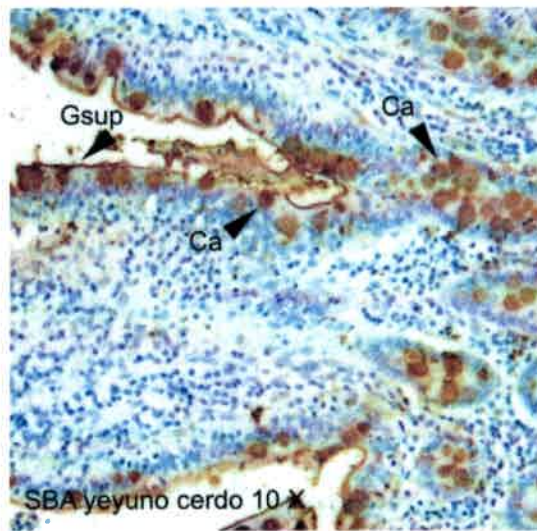


E

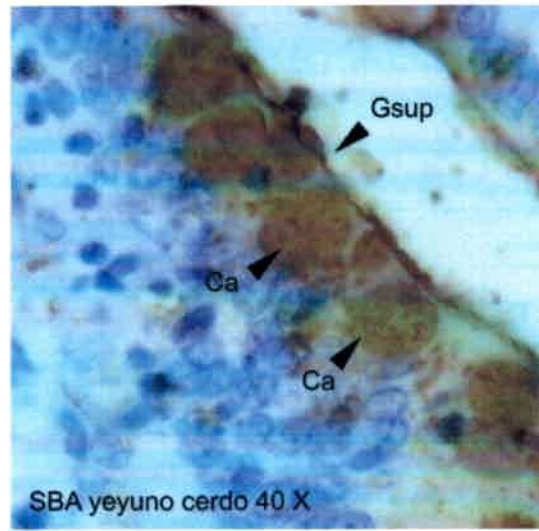


F

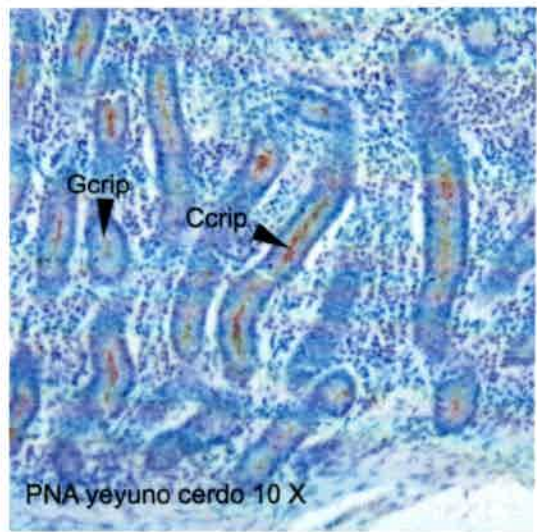
FIGURA 8



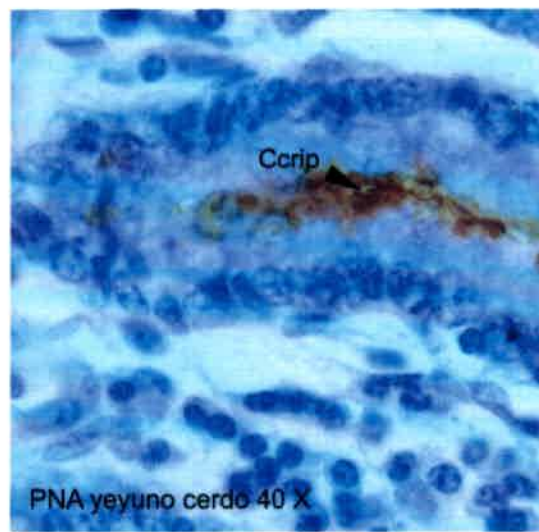
A



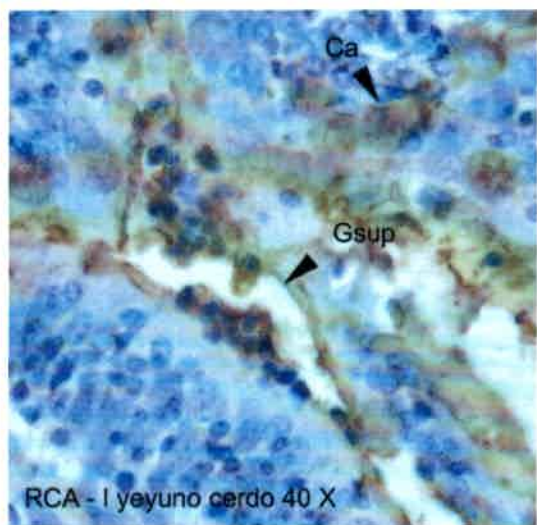
B



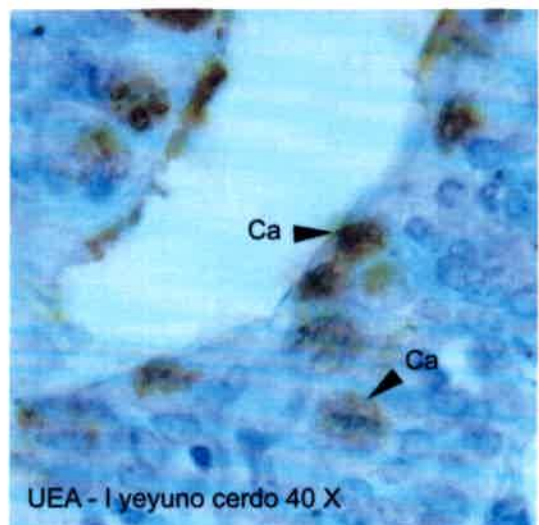
C



D



E



F

YEYUNO DE CONEJO

Los resultados se presentan resumidos en la tabla 5.

Técnica de PAS

El glicocálix, el citoplasma de los enterocitos y las células caliciformes se tiñen con la técnica de PAS. El contenido de las células caliciformes se observa homogéneo, ya que no se pueden diferenciar las vesículas secretorias.

Lectinhistoquímica

CON A: se evidencia el glicocálix en la superficie de la vellosidad (+) y se marca el citoplasma de los enterocitos de la vellosidad en forma supranuclear (+). Figuras 9 - A; 9 - B.

WGA: el glicocálix de los epitelios de la cripta (++) y de la superficie (++) se marcan de manera similar. El citoplasma de los enterocitos de la cripta (+) y de la vellosidad (+) muestran también una marcación semejante. Las células caliciformes son positivas (+). Figuras 9 - C; 9 - D.

DBA: en general la marcación es más intensa hacia la superficie del epitelio. Se evidencian el glicocálix de los epitelios de la cripta (+) y de la vellosidad (+++). También el citoplasma de los enterocitos de la cripta (+/-) y de la vellosidad (++) . En las células caliciformes se visualiza marcación heterogénea (+). Figuras 9 - E; 9 - F.

SBA: se marca el glicocálix de las células de la cripta (+/-) y de la vellosidad (+). En el citoplasma de los enterocitos de la cripta (++) y en el de los enterocitos de la vellosidad (+) se evidencian gránulos en la región

supranuclear. Un escaso número de células caliciformes es positivo (++)
Figuras 10 - A; 10 - B.

PNA: se observa marcación en el glicocálix de la cripta (+) y en forma leve en el citoplasma del enterocito de la vellosidad (+/-). Figuras 10 - C.

RCA - I: se visualiza el glicocálix del epitelio de la cripta (+) y de la superficie de la vellosidad (++)
En el citoplasma de los enterocitos de la cripta (++) se evidencian gránulos y también se marca el citoplasma de los enterocitos de la vellosidad (+). Algunas células caliciformes son positivas, en especial las ubicadas cerca de la superficie (++)
Figura 10 - D; 10 - E.

UEA - I: no se observa marcación del epitelio con esta lectina. Figura 10 - F.

Tabla 5: resultados de la técnica de PAS y lectinhistoquímica en el epitelio del yeyuno del conejo.

	Glicocálix enterocito cripta	Citoplasma enterocito cripta	Glicocálix enterocito vellosidad	Citoplasma enterocito vellosidad	Caliciformes
PAS	+++	++	+++	++	+++
CON A	-	-	+	+ ¹	-
WGA	++	+	++	+	+
DBA	+	+/-	+++	++	+ ²
SBA	+/-	++ ¹	+	+ ¹	++ ³
PNA	+	-	+/- ¹	-	-
RCA - I	+	++ ¹	++	+	++
UEA - I	-	-	-	-	-

1 - Se observa marcación en la zona supranuclear.

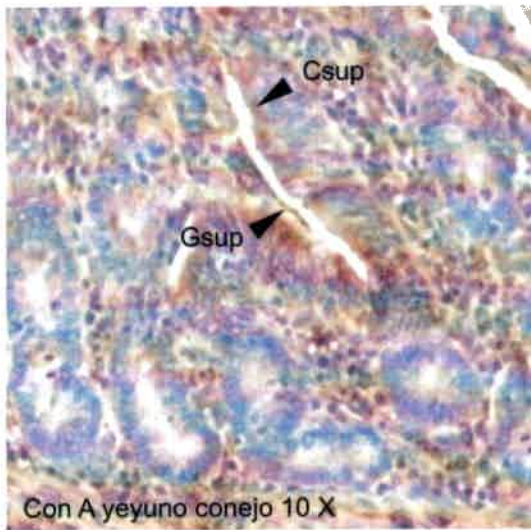
2 - Las células caliciformes se marcan en forma heterogénea.

3 - Las células caliciformes que se marcan son escasas.

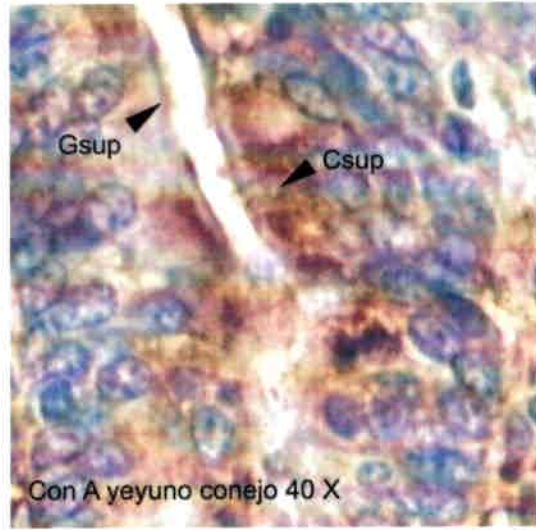
Figura 9: microfotografía de la mucosa del yeyuno del conejo. A: Marcación con lectina CON A 10 X. B: Marcación con lectina CON A 40 X. C: Marcación con lectina WGA 10 X. D: Marcación con lectina WGA 40 X. E: Marcación con lectina DBA 10 X. F: Marcación con lectina DBA 40 X. Referencias: **Gsup:** glicocálix del enterocito de la vellosidad; **Csup:** citoplasma del enterocito de la superficie; **Ca:** célula caliciforme.

Figura 10: microfotografía de la mucosa del yeyuno del conejo. A: Marcación con lectina SBA 10 X. B: Marcación con lectina SBA 40 X. C: Marcación con lectina PNA 40 X. D: Marcación con lectina RCA - I 10 X. E: Marcación con lectina RCA - I 40 X F: Marcación con lectina UEA - I 10 X. Referencias: **Gcrip:** glicocáliz del enterocito de la cripta; **Ccrip:** citoplasma del enterocito de la cripta; **Gsup:** glicocáliz del enterocito de la vellosidad; **Csup:** citoplasma del enterocito de la superficie; **Ca:** célula caliciforme.

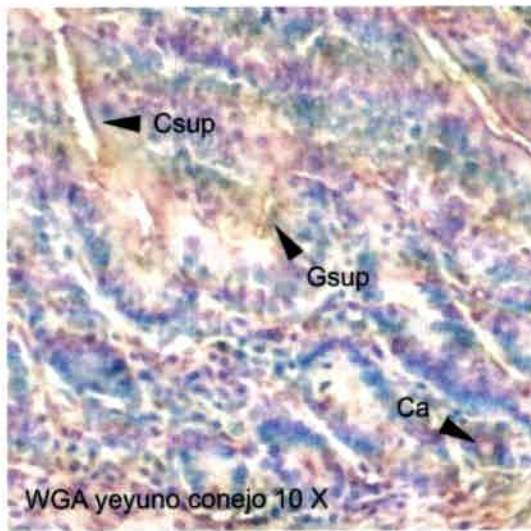
FIGURA 9



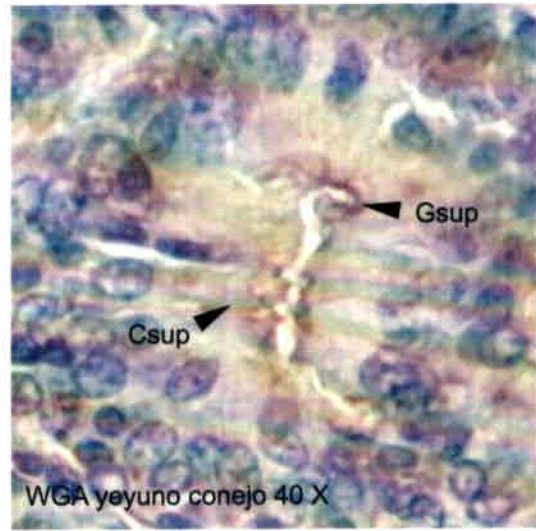
A



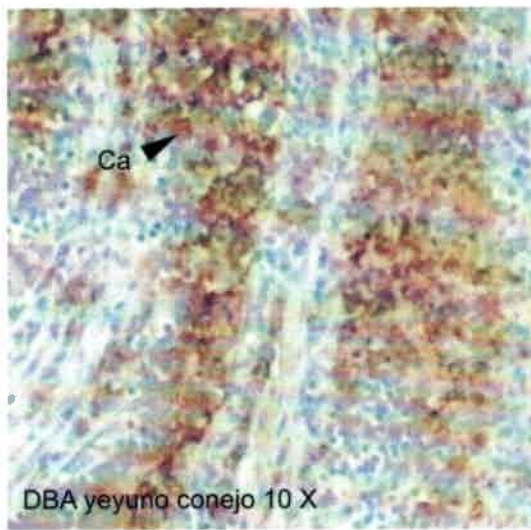
B



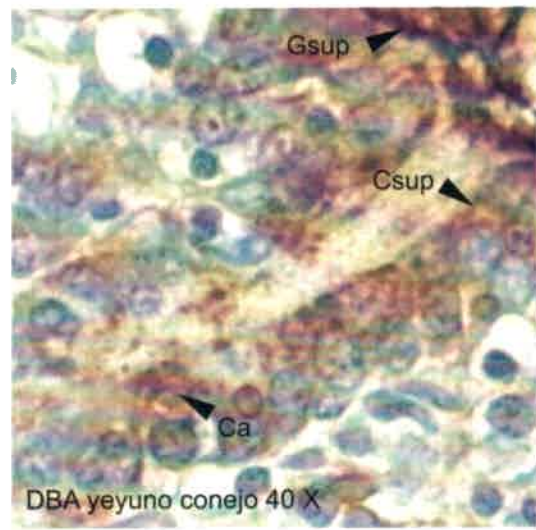
C



D

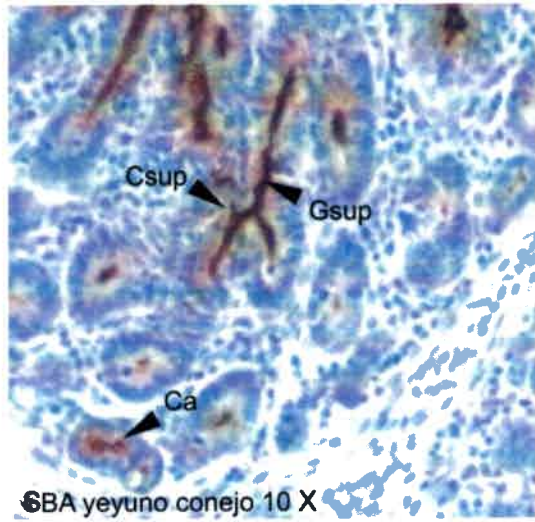


E

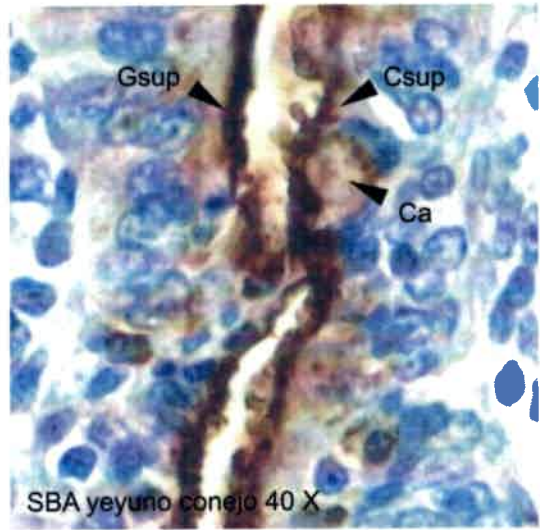


F

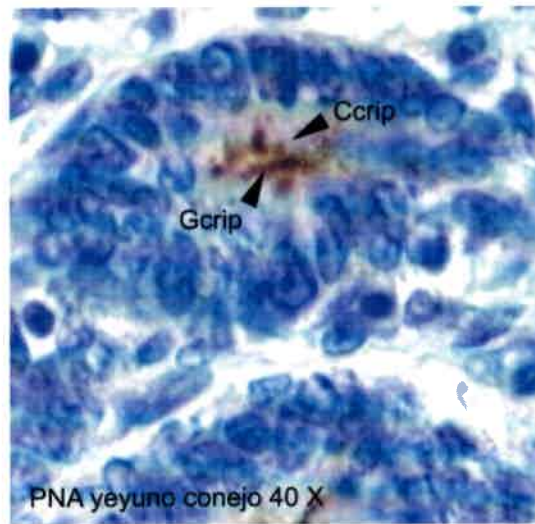
FIGURA 10



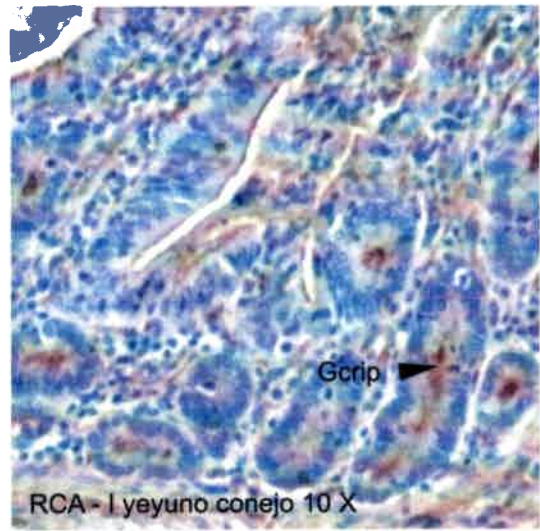
A



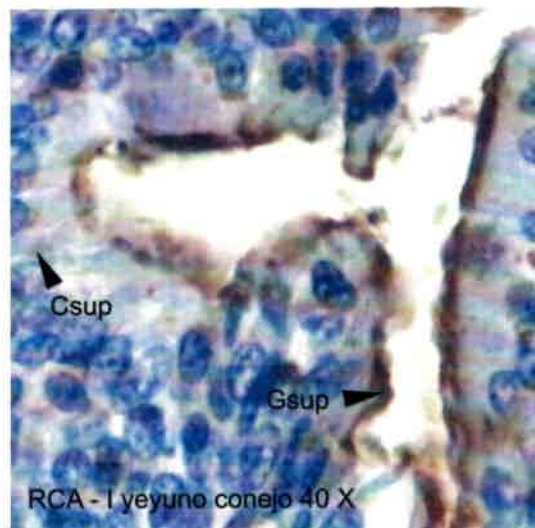
B



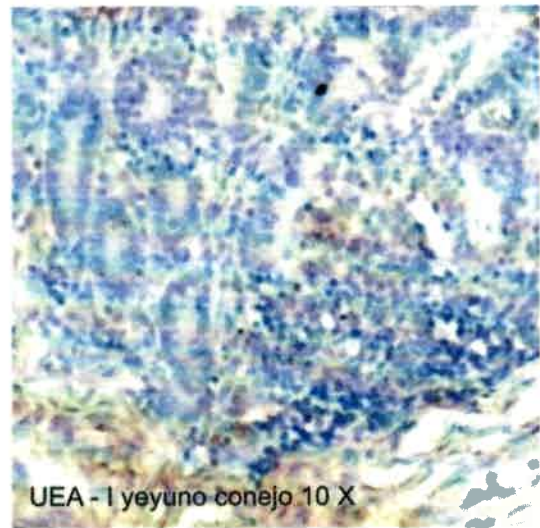
C



D



E



F

ÍLEON DE EQUINO

En la tabla 6 se resume la información sobre los resultados de estas técnicas.

Técnica de PAS

Se observa la tinción del citoplasma de los enterocitos y del contenido de las células caliciformes. Figura 11 - A.

Lectinhistoquímica

CON A: se evidencia el citoplasma de los enterocitos de la cripta (+++) y el de aquellos que tapizan la vellosidad intestinal (+++). El glicocálix de las células de la cripta y de la vellosidad se marcan con una intensidad similar (+++). Figuras 11 - B; 11 - C.

WGA: esta lectina marca el glicocálix de las células de la cripta (+) y con mayor intensidad el de las de la vellosidad (+++). El citoplasma de los enterocitos de la cripta y los de la vellosidad se marcan de manera similar (+). También las células caliciformes son positivas (++). Figura 11 - D.

DBA: se observa marcación en el glicocálix (+++) y en el citoplasma de los enterocitos de la cripta intestinal (++) . Las células caliciformes que son positivas (++) se encuentran en la porción profunda de la cripta intestinal y en la superficie. Figuras 11 - E; 11 - F.

SBA: en la porción intermedia de las glándulas intestinales no se visualiza marcación. En cambio el glicocálix de las células de la cripta y de la superficie (+++) se evidencian con claridad. El citoplasma de los enterocitos de la cripta intestinal (+++) se observa con mayor intensidad que el de los

enterocitos de la vellosidad (+). Las células caliciformes también son positivas (++) . Figura 12 - A.

PNA: se observa marcación en algunas células caliciformes (++)/+++). Figura 12 - B.

RCA - I: se reconoce marcación en algunas células caliciformes (++) , tanto a nivel de las membranas de las vesículas secretorias como de su contenido. El glicocálix de los enterocitos de la cripta (+) tiene un marca levemente más intensa que el de la superficie (+/-). El citoplasma de los enterocitos de la cripta es suavemente positivo (+/-). Figuras 12 - C; 12 - D.

UEA - I: se evidencian las células caliciformes y su contenido (++) . En algunas de ellas se marca el borde y en otras el contenido de las vesículas secretorias. Algunas vesículas tienen una marcación de mayor intensidad. Figuras 12 - E; 12 - F.

Tabla 6: resultados de la técnica de PAS y lectinhistoquímica en el epitelio del íleon del equino

	Glicocálix enterocito cripta	Citoplasma enterocito cripta	Glicocálix enterocito vellosidad	Citoplasma enterocito vellosidad	Caliciformes
PAS	+++	++	+++	++	+++
CON A	+++	+++	+++	+++	-
WGA	+	+	+++	+	++
DBA	+++	++	-	-	++ ¹
SBA	+++	+++	+++	+ ²	++
PNA	-	-	-	-	++ ³
RCA - I	+	+/-	+/-	-	++ ³
UEA - I	-	-	-	-	++

1 - Se marcan algunas células caliciformes en la cripta intestinal y otras en la vellosidad.

2 - En el citoplasma se evidencia una imagen granular.

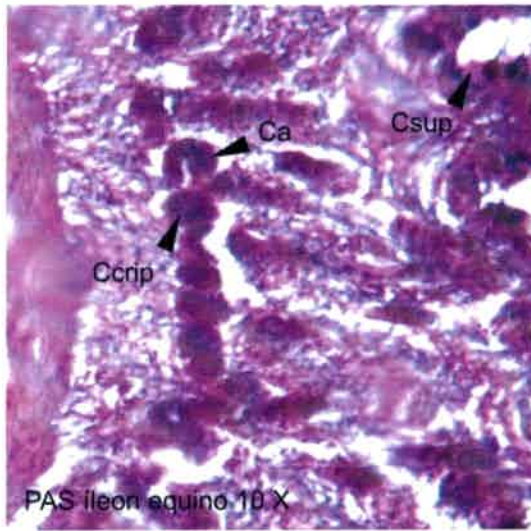
3 - Se marcan algunas células.

Figura 11: microfotografía de la mucosa del íleon del equino. A: Tinción de PAS 10 X. B: Marcación con lectina CON A 10 X. C: Marcación con lectina CON A 40 X. D: Marcación con lectina WGA 40 X. E: Marcación con lectina DBA 10 X. F: Marcación con lectina DBA 40 X.

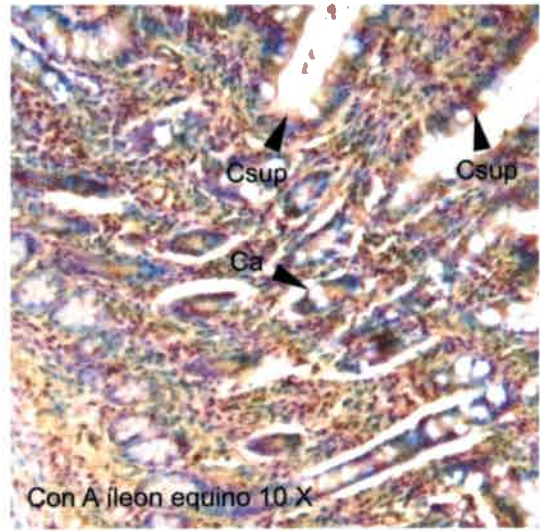
Referencias: **Csup**: citoplasma del enterocito de la vellosidad; **Gsup**: glicocálix del enterocito de la vellosidad; **Ca**: célula caliciforme.

Figura 12: microfotografía de la mucosa del íleon del equino. A: Marcación con lectina SBA 40 X. B: Marcación con lectina PNA 40 X. C: Marcación con lectina RCA - I 10 X. D: Marcación con lectina RCA - I 40 X. E: Marcación con lectina UEA - I 10 X F: Marcación con lectina UEA - I 40 X. Referencias: **Gsup**: glicocálix del enterocito de la vellosidad; **Ca**: célula caliciforme.

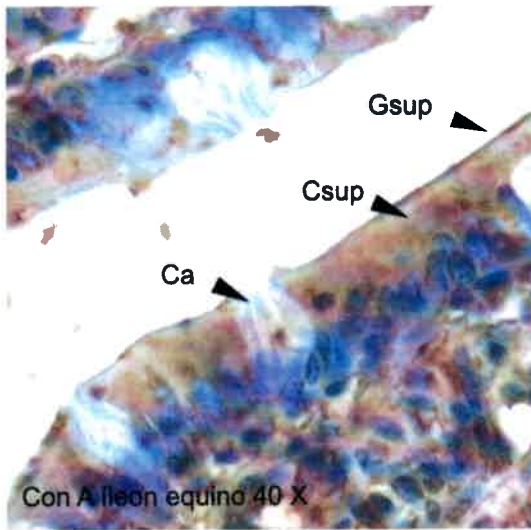
FIGURA 11



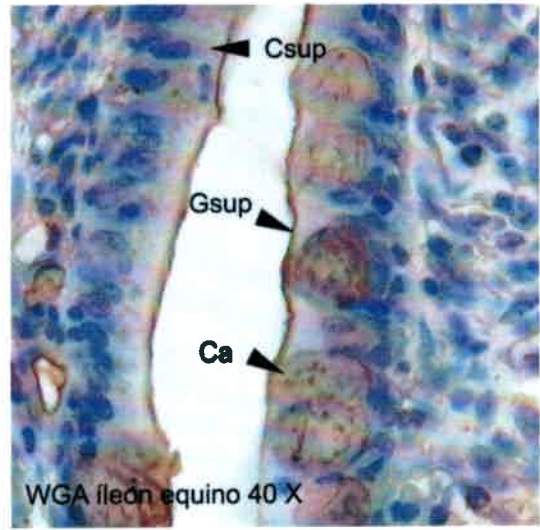
A



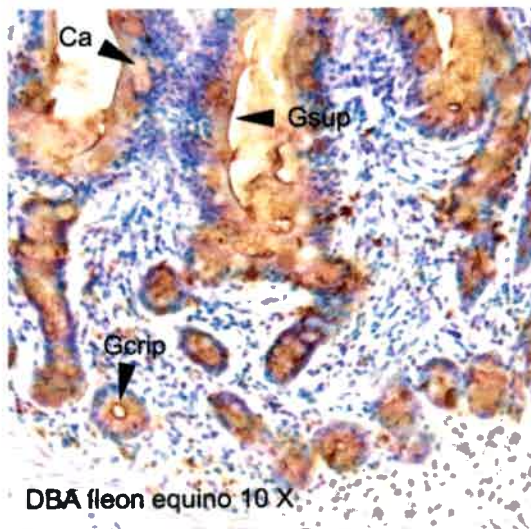
B



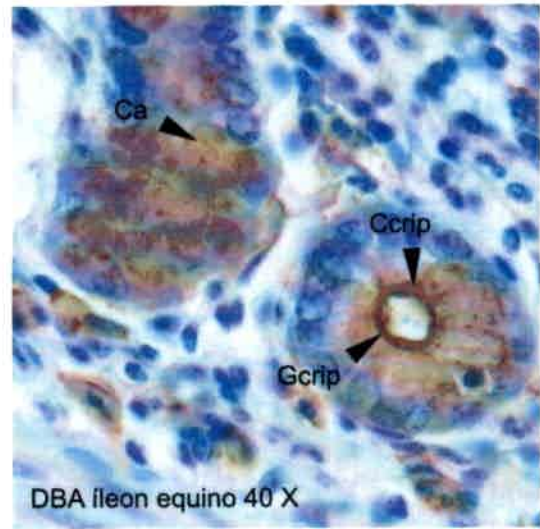
C



D

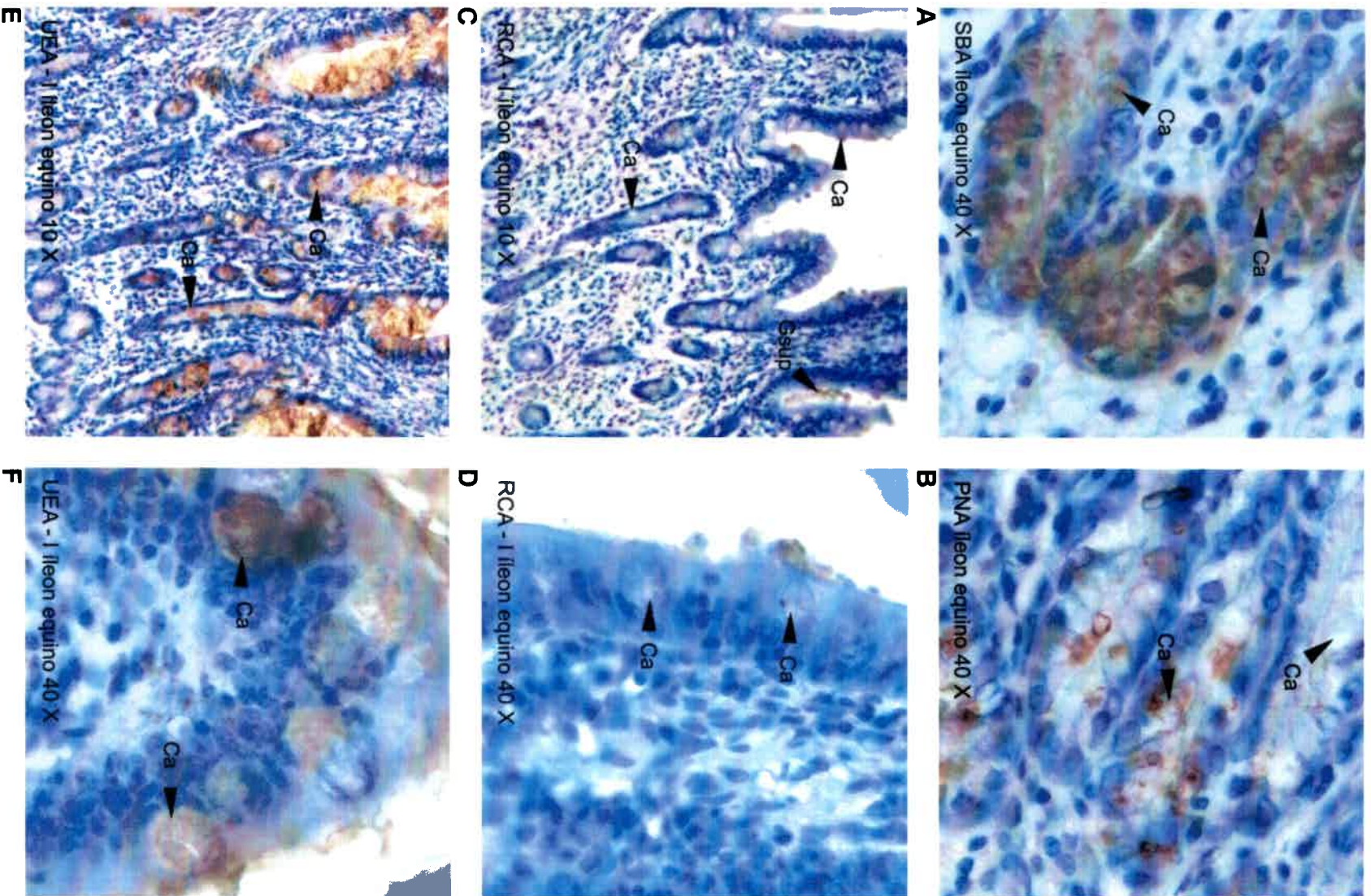


E



F

FIGURA 12



ÍLEON DE CERDO

En la tabla 7 se resume la información sobre los resultados de estas técnicas.

Técnica de PAS

El glicocáliz, el citoplasma de los enterocitos y el contenido de las células caliciformes se tiñen con la técnica de PAS. Figura 13 - A.

Lectinohistoquímica

CON A: el glicocáliz de la cripta (++) y el de la vellosidad (++) se evidencian con la misma intensidad. Del mismo modo, se marcan de manera similar el citoplasma de los enterocitos de la cripta (+) y de la vellosidad (+). Figura 13 - B.

WGA: se observa que el glicocáliz de la cripta (+) marca con menor intensidad que el de la vellosidad (++) . El citoplasma de los enterocitos de la cripta (+) marcan de manera similar que los de la vellosidad (+). En las células caliciformes (++) se marcan las membranas de las vesículas secretorias y, de manera más suave, su contenido. Figuras 13 - C; 13 - D.

DBA: se observa el glicocáliz que reviste la superficie de la vellosidad (+) y algunas células caliciformes (+). Figuras 13 - E; 13 - F.

SBA: se visualiza el glicocáliz de los enterocitos de la cripta (+) y de la vellosidad (++) , con distinta intensidad. En cambio, el citoplasma de los enterocitos de la cripta y de la vellosidad marcan de manera similar (+). Algunas células caliciformes se observan con mayor marcación (+++) y otras con menor marca (++) . Figura 14 - A.

PNA: tanto el glicocálix de las células de la cripta (++) como el de la vellosidad (++) se evidencian de manera similar. En el citoplasma apical de los enterocitos de la cripta se observa un patrón de marcado vesicular (+). El citoplasma de los enterocitos de la vellosidad (+) también se marca. Figuras 14 - B; 14 - C.

RCA - I: el glicocálix de los epitelios de la cripta y de la vellosidad se evidencian de manera semejante (++), lo mismo ocurre con el citoplasma de los enterocitos de la cripta y de la vellosidad (+). Las células caliciformes ofrecen una imagen heterogénea, algunas se evidencian mejor (++) que otras (+). Figura 14 - D.

UEA - I: se observa una marcación similar en el glicocálix de los enterocitos de la cripta y de la vellosidad (++). Del mismo modo, se evidencian de forma similar el citoplasma de los enterocitos de la cripta y los de la vellosidad (+). La membrana de las vesículas secretorias de las células caliciformes (++) se marca de manera desigual. Figuras 14 - E; 14 - F.

Tabla 7: resultados de la técnica de PAS y lectinhistoquímica en el epitelio del íleon del cerdo.

	Glicocálix enterocito cripta	Citoplasma enterocito cripta	Glicocálix enterocito vellosidad	Citoplasma enterocito vellosidad	Caliciformes
PAS	+++	++	+++	++	+++
CON A	++	+	++	+	-
WGA	+	+	++	+	++
DBA	-	-	+	-	+ ¹
SBA	+	+	++	+	++/+++
PNA	++	+ ²	++	+	-
RCA - I	++	+	++	+	+/++
UEA - I	++	+	++	+	++

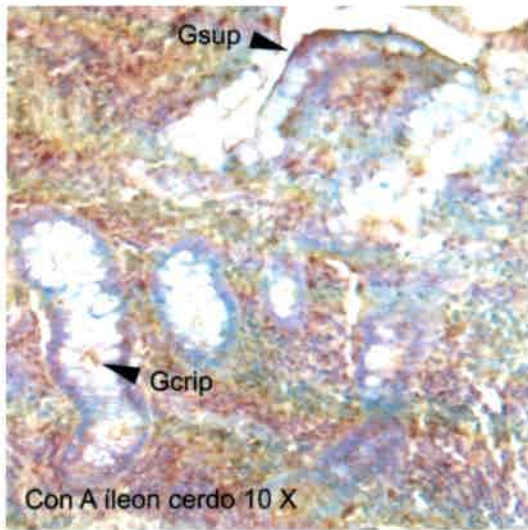
1 - Se evidencian escasas células caliciformes.

2 - En el extremo apical se observan vesículas.

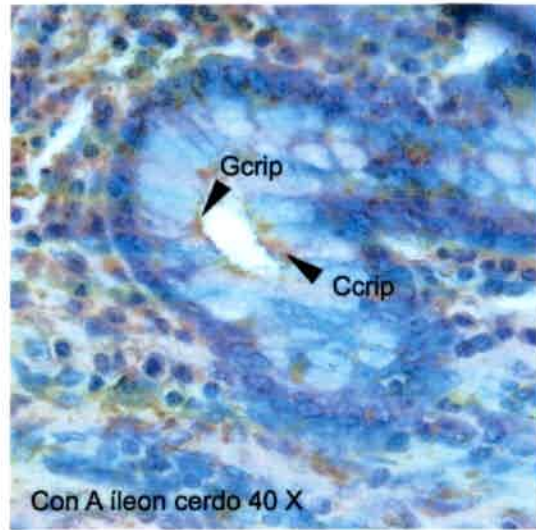
Figura 13: microfotografía de la mucosa del íleon del cerdo. A: Marcación con lectina CON A 10 X. B: Marcación con lectina CON A 40 X. C: Marcación con lectina WGA 10 X. D: Marcación con lectina WGA 40 X. E: Marcación con lectina DBA 10 X. F: Marcación con lectina DBA 40 X. Referencias: **Gcrip:** glicocáliz del enterocito de la cripta; **Csup:** citoplasma del enterocito de la vellosidad; **Gsup:** glicocáliz del enterocito de la vellosidad; **Ca:** célula caliciforme.

Figura 14: microfotografía de la mucosa del íleon del cerdo. A: Marcación con lectina SBA 40 X. B: Marcación con lectina PNA 10 X. C: Marcación con lectina PNA 40 X. D: Marcación con lectina RCA - I 40 X. E: Marcación con lectina UEA - I 10 X F: Marcación con lectina UEA - I 40 X. Referencias: **Csup:** citoplasma del enterocito de la vellosidad; **Gsup:** glicocáliz del enterocito de la vellosidad; **Ca:** célula caliciforme.

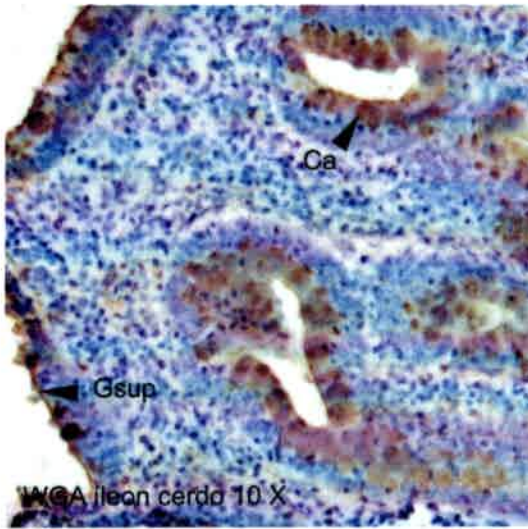
FIGURA 13



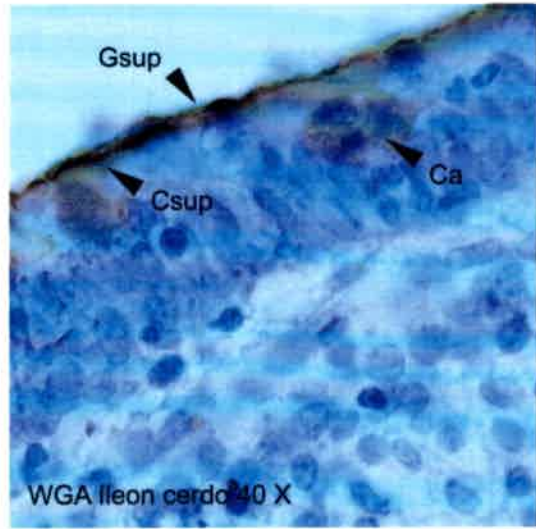
A



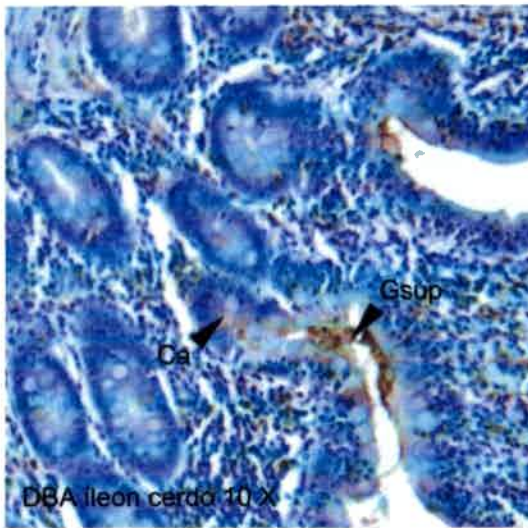
B



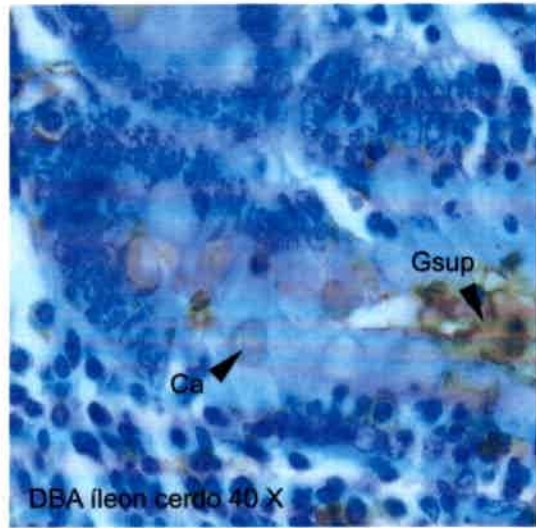
C



D

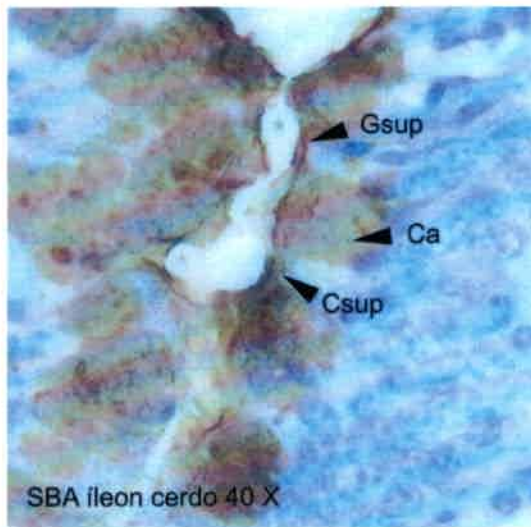


E

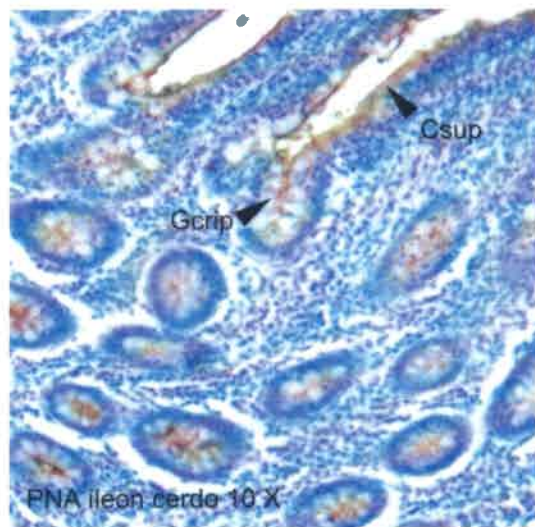


F

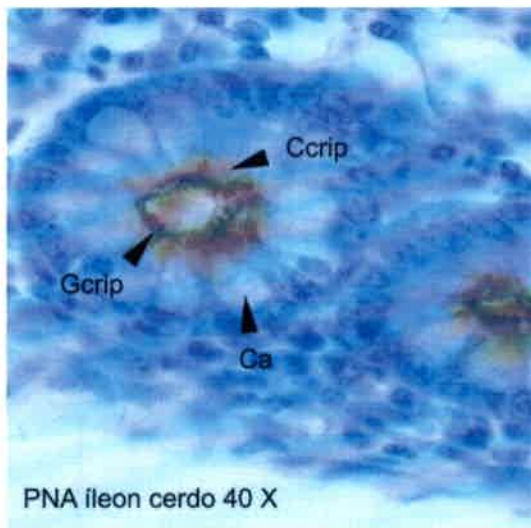
FIGURA 14



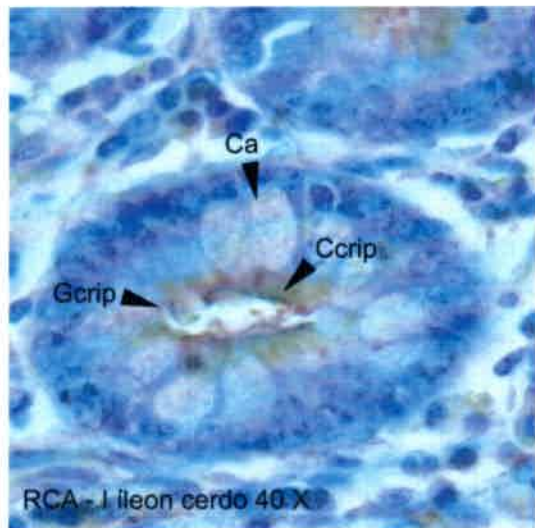
A



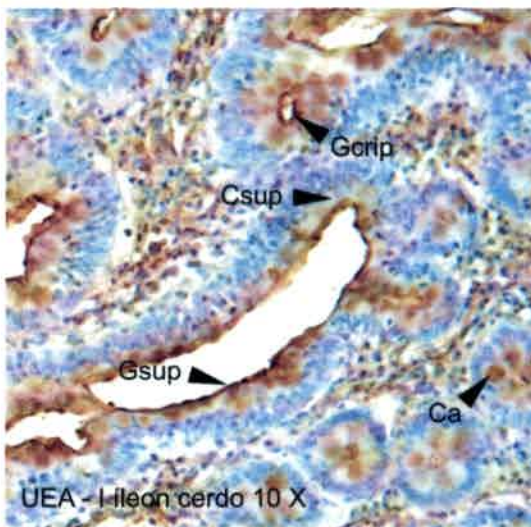
B



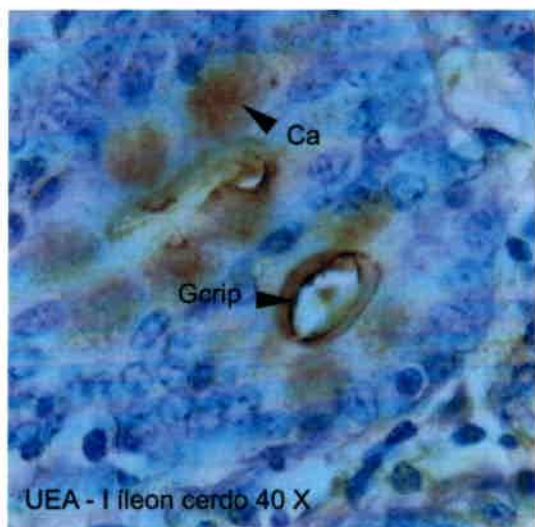
C



D



E



F

ÍLEON DE CONEJO

En la tabla 8 se resume la información sobre los resultados de estas técnicas.

Técnica de PAS

El citoplasma de los enterocitos y el contenido de las células caliciformes se tiñen con la técnica de PAS. El contenido de las células caliciformes se observa homogéneo.

Lectinhistoquímica

CON A: se observa marcación en el citoplasma de los enterocitos de la cripta (+) y en el citoplasma de los enterocitos de la vellosidad (+). Figuras 15 – A; 15 - B.

WGA: la lectina WGA marca el glicocáliz de los enterocitos de la cripta (++) con mayor intensidad que el glicocáliz de los enterocitos de la vellosidad (+). El citoplasma de los enterocitos de la cripta se evidencia en forma similar al de los enterocitos de la vellosidad (+). Las células caliciformes se marca en forma heterogénea (+). Figuras 15 - C; 15 - D.

DBA: se observa marcación en el glicocáliz de los enterocitos de la cripta (++) y en el de los enterocitos de la superficie (+). Se evidencia el citoplasma de los enterocitos de la cripta intestinal (+). Las células caliciformes se marcan en forma heterogénea (+). Figuras 15 - E; 15 - F.

SBA: se visualiza marcación en el glicocáliz de los enterocitos de la cripta y de la vellosidad con la misma intensidad (++) . Se evidencian de forma

similar el citoplasma de los enterocitos de la cripta y de la vellosidad (+). Las células caliciformes se marcan en forma heterogénea. Figuras 16 - A; 16 - B.

PNA: no se observa marcación en el epitelio intestinal con la lectina PNA.

RCA – I: el glicocáliz de los enterocitos de la cripta y de la vellosidad se evidencian de forma similar (+). Se observa una marcación leve en el citoplasma de los enterocitos de la cripta (+/-). Las células caliciformes se marcan en forma heterogénea. Figuras 16 - C; 17 - D.

UEA – I: se observa una leve marcación en las células caliciformes (+/-). Figuras 17 – E; 17 - F.

Tabla 8: resultados de la técnica de PAS y lectinhistoquímica en el epitelio del íleon del conejo.

	Glicocáliz enterocito cripta	Citoplasma enterocito cripta	Glicocáliz enterocito vellosidad	Citoplasma enterocito vellosidad	Caliciformes
PAS	+++	++	+++	++	+++
CON A	-	+	-	+	-
WGA	++	+	+	+	+ ¹
DBA	++	+	+	-	+ ¹
SBA	++	+	++	+	+ ¹
PNA	-	-	-	-	-
RCA - I	+	+/-	+	-	+ ¹
UEA - I	-	-	-	-	+/-

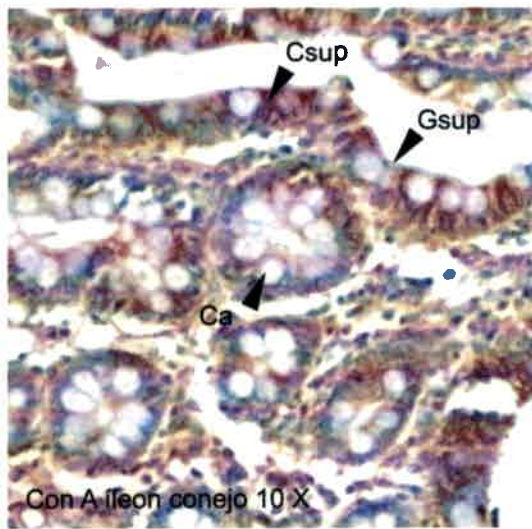
1 – Las células caliciformes se marcan en forma heterogénea.

Figura 15: microfotografía de la mucosa del íleon del conejo. A: Marcación con lectina CON A 10 X. B: Marcación con lectina CON A 40 X. C: Marcación con lectina WGA 10 X. D: Marcación con lectina WGA 40 X. E: Marcación con lectina DBA 10 X. F: Marcación con lectina DBA 30 X. Referencias: **Ccrip:** citoplasma del enterocito de la cripta; **Gcrip:** glicocáliz del enterocito de la cripta; **Csup:** citoplasma del enterocito de la vellosidad; **Gsup:** glicocáliz del enterocito de la vellosidad; **Ca:** célula caliciforme.

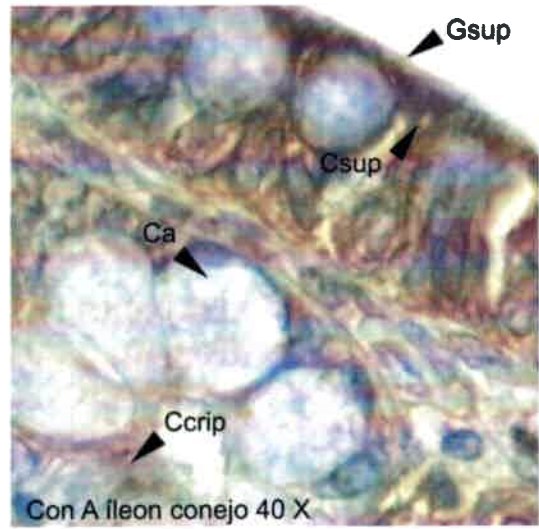
Figura 16: microfotografía de la mucosa del íleon del conejo. A: Marcación con lectina SBA 10 X. B: Marcación con lectina SBA 40 X. C: Marcación con lectina RCA - I 10 X. D:

Marcación con lectina RCA - I 40 X. E: Marcación con lectina UEA - I 10 X F: Marcación con lectina UEA - I 40 X. Referencias: **Ccrip**: citoplasma del enterocito de la cripta; **Gcrip**: glicocáliz del enterocito de la cripta; **Gsup**: glicocáliz del enterocito de la vellosidad; **Ca**: célula caliciforme.

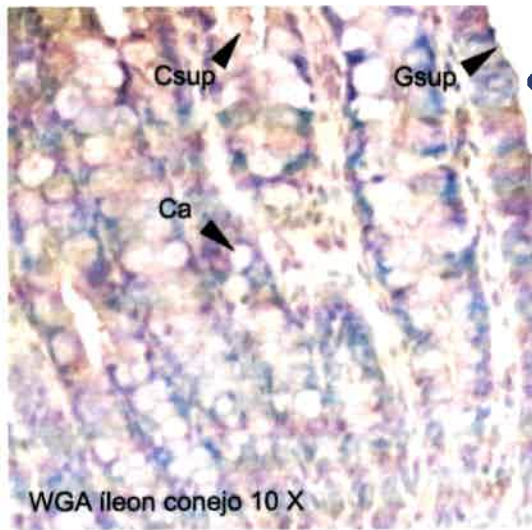
FIGURA 15



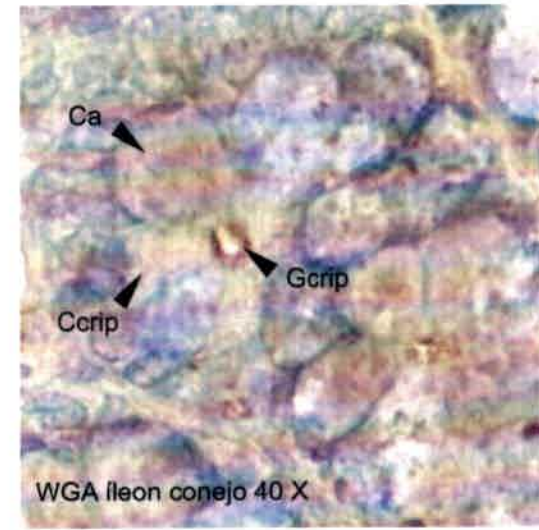
A



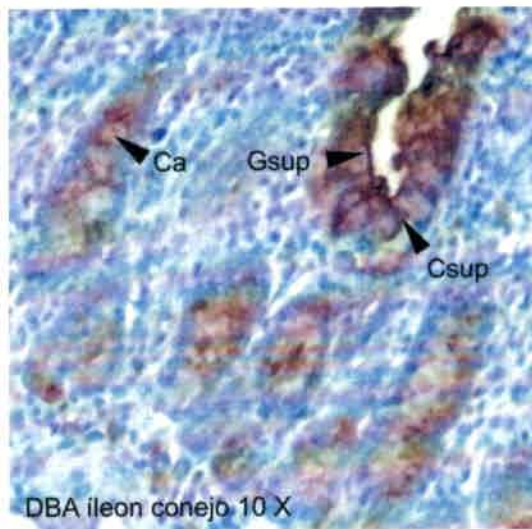
B



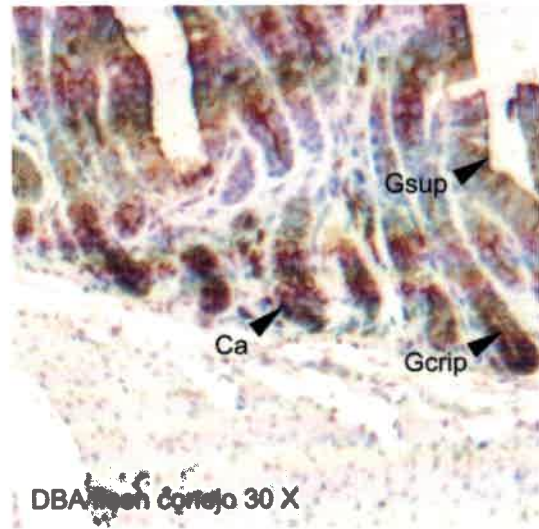
C



D

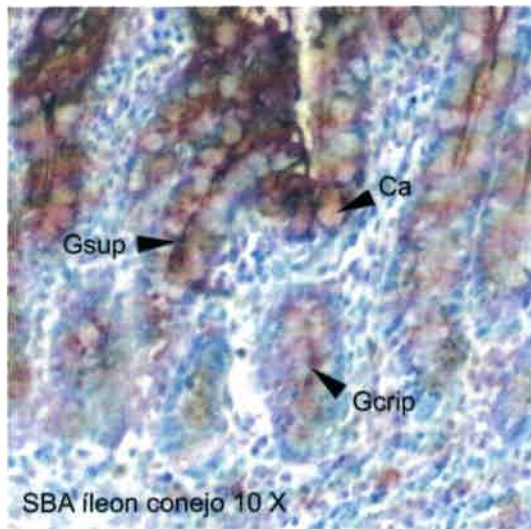


E

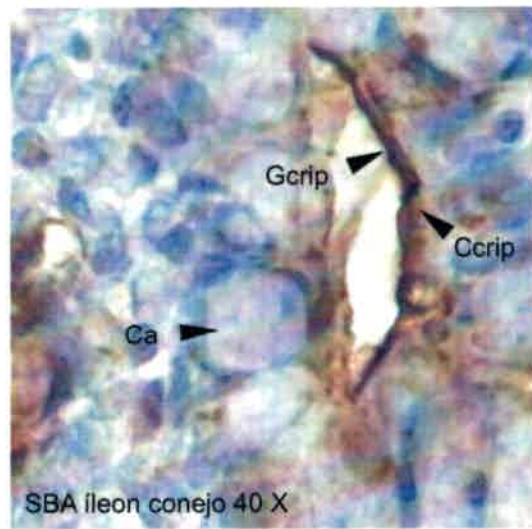


F

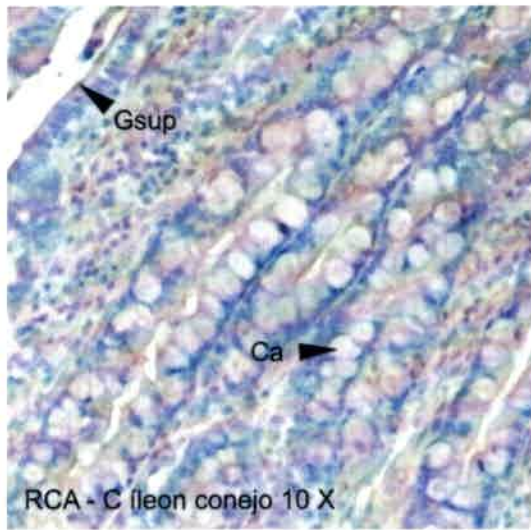
FIGURA 16



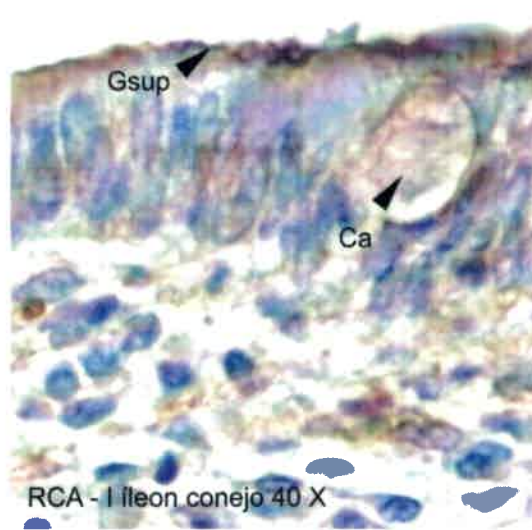
A



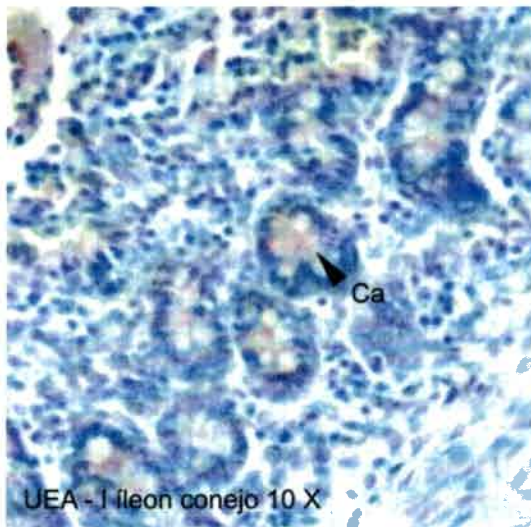
B



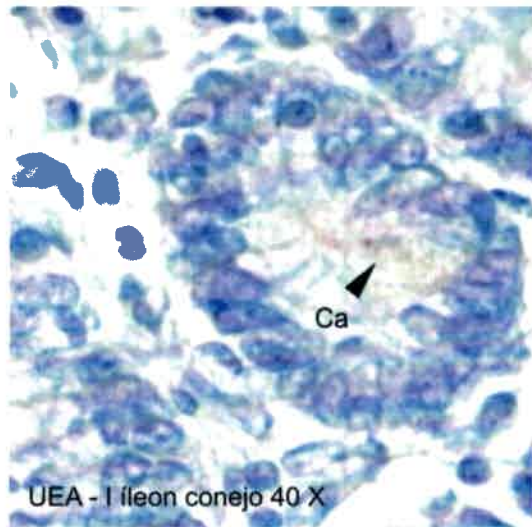
C



D



E



F

COLON DE EQUINO

En la tabla 9 se resume la información sobre los resultados de estas técnicas.

Técnica de PAS

El citoplasma y el glicocálix de los enterocitos, al igual que las células caliciformes se tiñen con la técnica de PAS.

Lectinhistoquímica

CON A: no se evidencia marcación en el epitelio. Figuras 17 - A ; 17 - B.

WGA: se observa marcación en el glicocálix de las células de la cripta (++) , y de la superficie (+++) así como en el citoplasma de los enterocitos de la cripta (+) y de la superficie (+). Figuras 17 - C; 17 - D.

DBA: tanto el glicocálix de los enterocitos de la cripta como del de la superficie se evidencian claramente (+++). Con respecto al citoplasma, solo es positivo en los enterocitos de la superficie (+). Las células caliciformes se marcan de manera desigual, las que presentan marca (+) se hallan en la superficie del epitelio. Figuras 17 - E; 17 - F.

SBA: son positivos tanto el glicocálix (++) como el citoplasma de los enterocitos de la superficie (+++). En el último caso se observa marcación supranuclear. Figuras 18 - A; 18 - B.

PNA: la lectina marca en forma supranuclear el citoplasma de los enterocitos de la superficie (+++). Figuras 18 - C; 18 - D.

RCA – I: el glicocálix de los enterocitos de la cripta es positivo (++) con esta lectina. Figuras 18 – E; 18 - F.

UEA – I: se marca suavemente el glicocálix de los enterocitos de la superficie (+).

Tabla 9: resultados de la técnica de PAS y lectinhistoquímica en el epitelio del colon del equino.

	Glicocálix enterocito cripta	Citoplasma enterocito cripta	Glicocálix enterocito superficie	Citoplasma enterocito superficie	Caliciformes
PAS	+++	++	+++	++	+++
CON A	-	-	-	-	-
WGA	++	+	+++	+	-
DBA	+++	-	+++	+	+ ¹
SBA	-	-	++	+++ ²	-
PNA	-	-	-	+++ ²	-
RCA - I	++	-	-	-	-
UEA - I	-	-	+	-	-

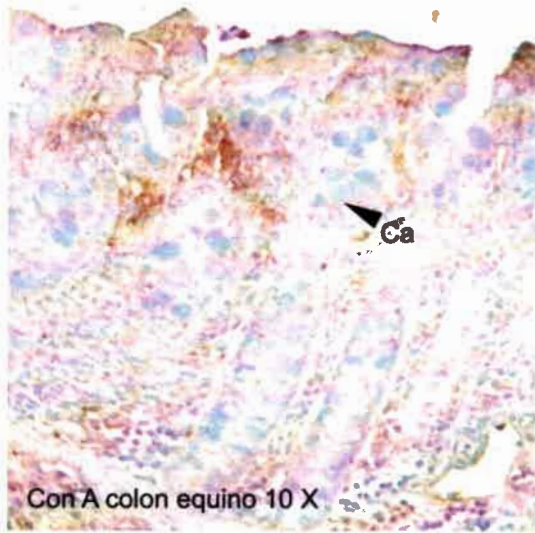
1 - Se observa marca en algunas células en la superficie.

2 - Se observa marcación supranuclear.

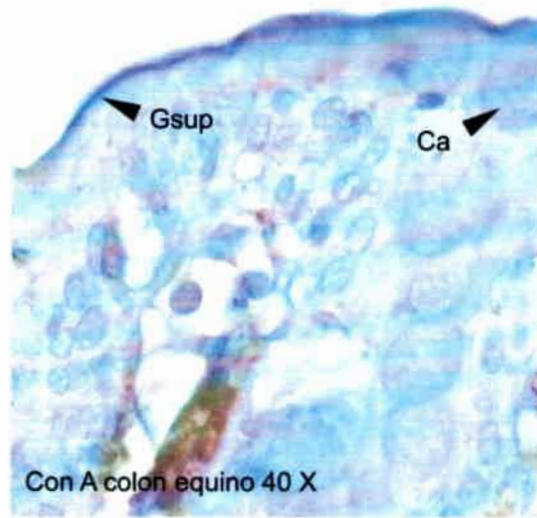
Figura 17: microfotografía de la mucosa del colon del equino. A: Marcación con lectina CON A 10 X. B: Marcación con lectina CON A 40 X. C: Marcación con lectina WGA 10 X. D: Marcación con lectina WGA 40 X. E: Marcación con lectina DBA 10 X. F: Marcación con lectina DBA 40 X. Referencias: **Gcrip:** glicocálix del enterocito de la cripta; **Gsup:** glicocálix del enterocito de la superficie; **Ca:** célula caliciforme.

Figura 18: microfotografía de la mucosa del colon del equino. A: Marcación con lectina SBA 10 X. B: Marcación con lectina SBA 40 X. C: Marcación con lectina PNA 10 X. D: Marcación con lectina PNA 40 X. E: Marcación con lectina RCA - I 40 X F: Marcación con lectina UEA - I 40 X. Referencias: **Csup:** citoplasma del enterocito de la superficie; **Gsup:** glicocálix del enterocito de la superficie; **Ca:** célula caliciforme.

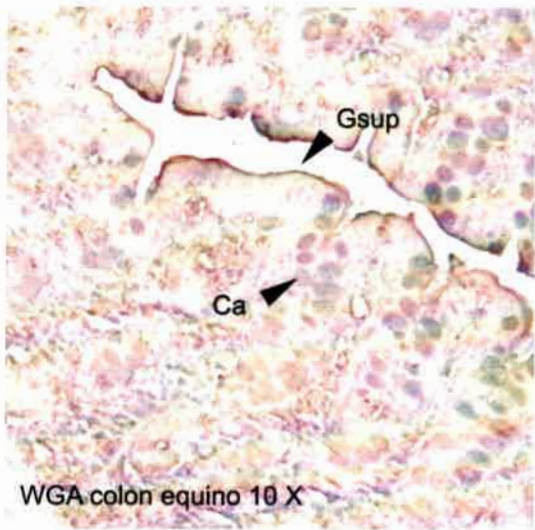
FIGURA 17



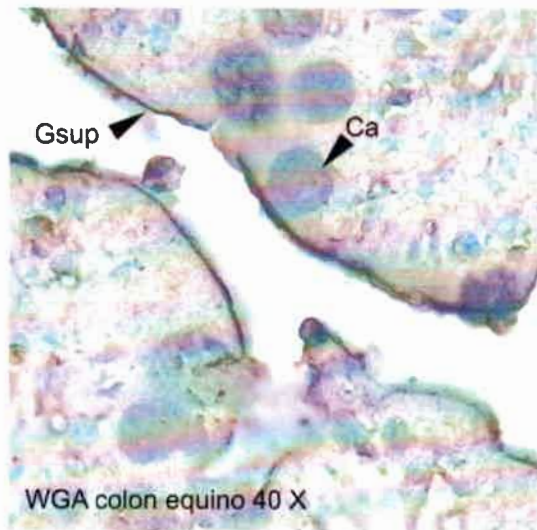
A



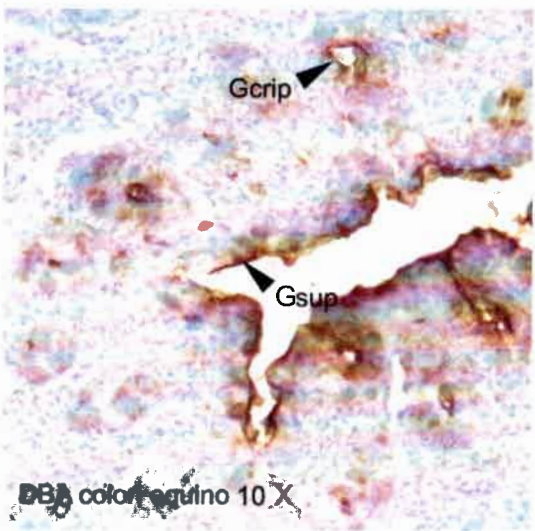
B



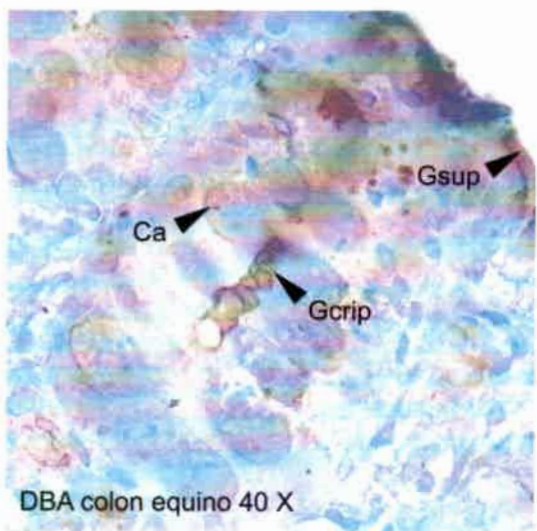
C



D

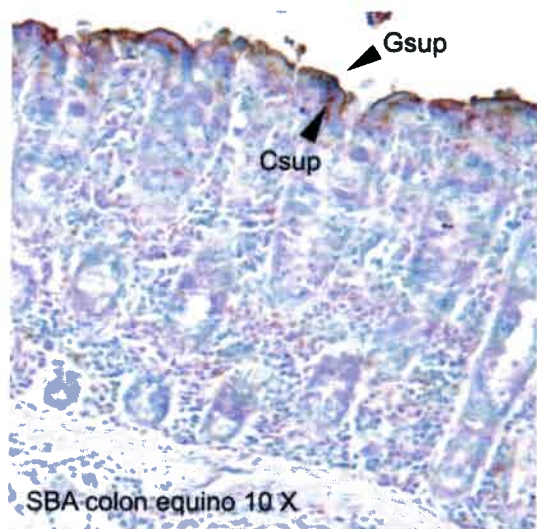


E

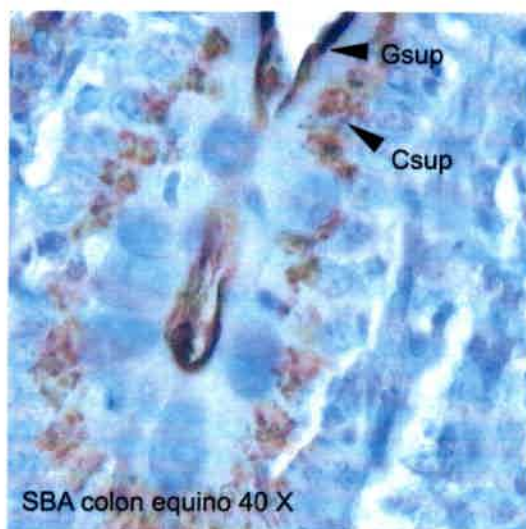


F

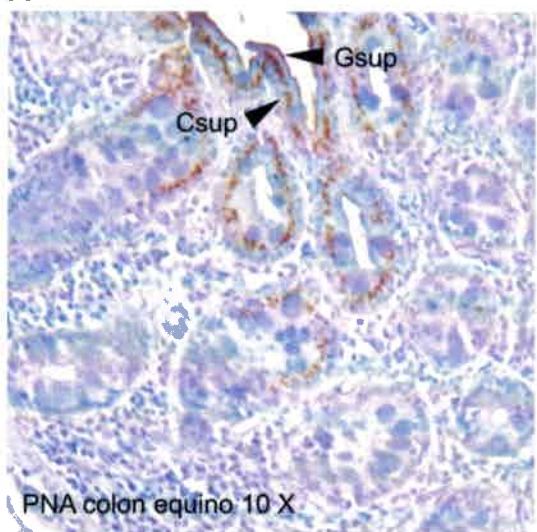
FIGURA 18



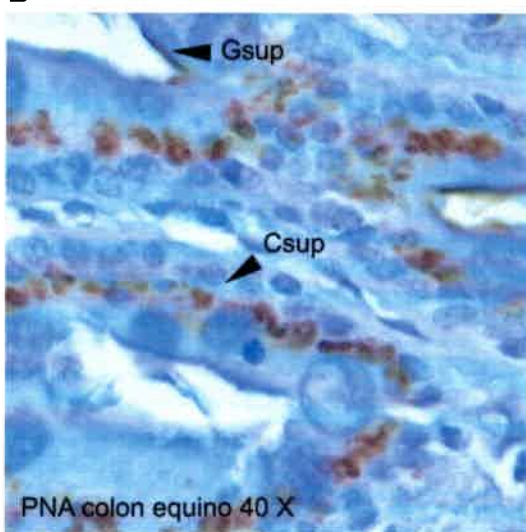
A



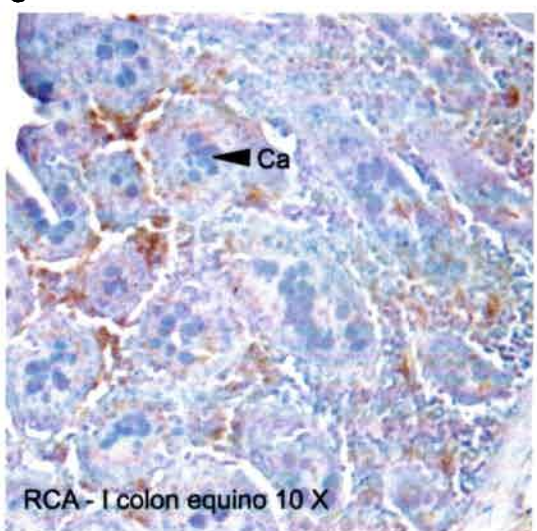
B



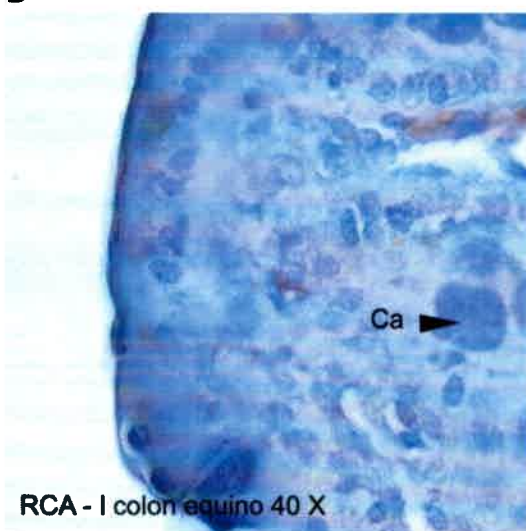
C



D



E



F

COLON DE CERDO

La tabla 10 resume la información sobre los resultados de estas técnicas.

Técnica de PAS

La técnica de PAS tiñe el glicocálix, el citoplasma de los enterocitos y el contenido de las células caliciformes.

Lectinhistoquímica

CON A: se marcan tanto el glicocálix de las células de la cripta (++) como el de las células de la superficie (+), pero con distinta intensidad. El citoplasma de los enterocitos de la cripta (++) y de la superficie (++) se evidencian de manera semejante. Figuras 19 - A; 19 - B.

WGA: se marca más intensamente el glicocálix de la superficie (+++) que el de la cripta (++) . El citoplasma de los enterocitos de la superficie (++) y las vesículas secretorias de las células caliciformes (++) se observan positivas. Figuras 19 – C; 19 - D; 19 - E.

DBA: no se evidencia unión de esta lectina en el epitelio. Figuras 19 - F.

SBA: la marcación con esta lectina se visualiza hacia la base de la cripta y en la superficie, pero está ausente en la porción intermedia de las glándulas intestinales. El glicocálix de las células de la cripta (+++) se marca con mayor intensidad que el de la superficie (+). El citoplasma de los enterocitos de la superficie (+++) y el citoplasma de los enterocitos de la cripta (+++) son positivos con esta técnica. Figuras 20 - A; 20 - B.

PNA: se observa marcación en el glicocáliz de la superficie (+) y en forma supranuclear en los enterocitos de la superficie (+++). Figuras 20 - C; 20 - D.

RCA - I: se evidencia el glicocáliz de la cripta (+++) y de la superficie (++) . El citoplasma de los enterocitos de la cripta (+++) se evidencia con mayor intensidad que el de los enterocitos de la superficie (+). Las membranas de las vesículas de las células caliciformes son positivas (+++). Figuras 20 - E.

UEA - I: el citoplasma de los enterocitos de la cripta (++) y el de los enterocitos de la superficie (++) tienen una marcación similar. Se evidencian el glicocáliz tanto en las células de la cripta (+++) como en las de la superficie. Las células caliciformes son positivas (+++), observándose una marcación heterogénea de las vesículas secretorias. Figuras 20 - F.

Tabla 10: resultados de la técnica de PAS y lectinhistoquímica en el epitelio del colon del cerdo.

	Glicocáliz enterocito cripta	Citoplasma enterocito cripta	Glicocáliz enterocito superficie	Citoplasma enterocito superficie	Caliciformes
PAS	+++	++	+++	++	+++
CON A	++	++	+	++	-
WGA	++	-	+++	++	++ ¹
DBA	-	-	+	-	-
SBA	+++	++	+	+++	-
PNA	-	-	+	+++ ²	-
RCA - I	+++	+++	++	+	+++ ¹
UEA - I	+++	++	++	++	+++ ¹

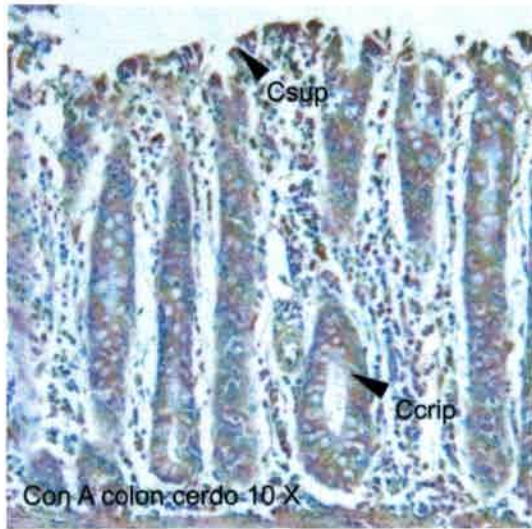
1 - Se evidencian las vesículas secretorias.

2 - Se observa marcación supranuclear.

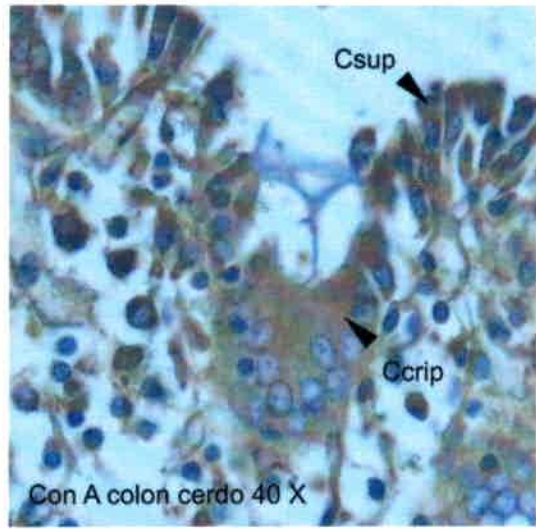
Figura 19: microfotografía de la mucosa del colon del cerdo. A: Marcación con lectina CON A 10 X. B: Marcación con lectina CON A 40 X. C: Marcación con lectina WGA 10X. D: Marcación con lectina WGA 40 X. E: Marcación con lectina WGA 40 X. F: Marcación con lectina DBA 10 X. Referencias: **Ccrip:** citoplasma del enterocito de la cripta **Gcrip:** glicocáliz del enterocito de la cripta; **Csup:** citoplasma del enterocito de la superficie; **Gsup:** glicocáliz del enterocito de la superficie; **Ca:** célula caliciforme.

Figura 20: microfotografía de la mucosa del colon del cerdo. A: Marcación con lectina SBA 10 X. B: Marcación con lectina SBA 40 X. C: Marcación con lectina PNA 10 X. D: Marcación con lectina PNA 40 X. E: Marcación con lectina RCA - I 10 X F: Marcación con lectina UEA - I 40 X. Referencias: **Ccrip**: citoplasma del enterocito de la cripta **Gcrip**: glicocáliz del enterocito de la cripta; **Csup**: citoplasma del enterocito de la superficie; **Gsup**: glicocáliz del enterocito de la superficie; **Ca**: célula caliciforme.

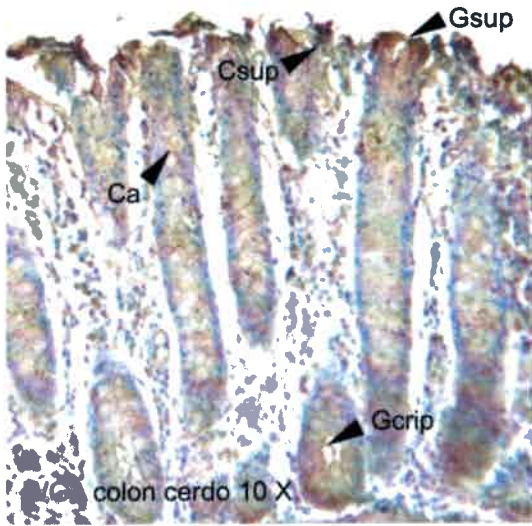
FIGURA 19



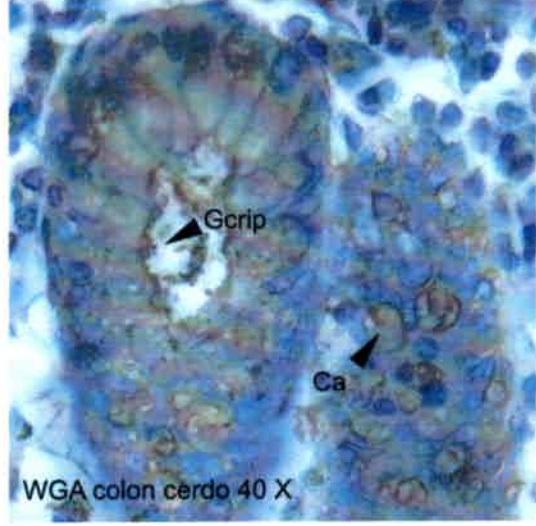
A



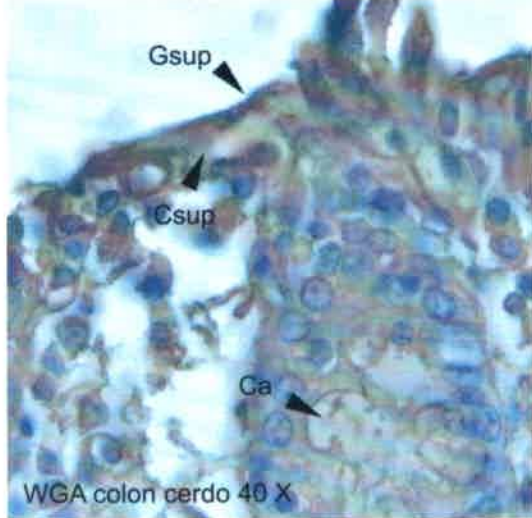
B



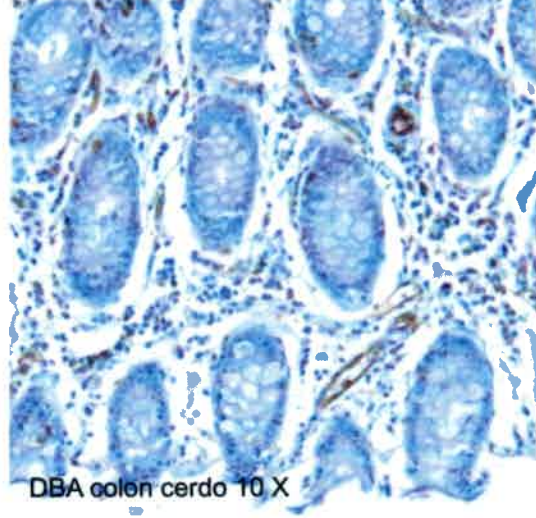
C



D

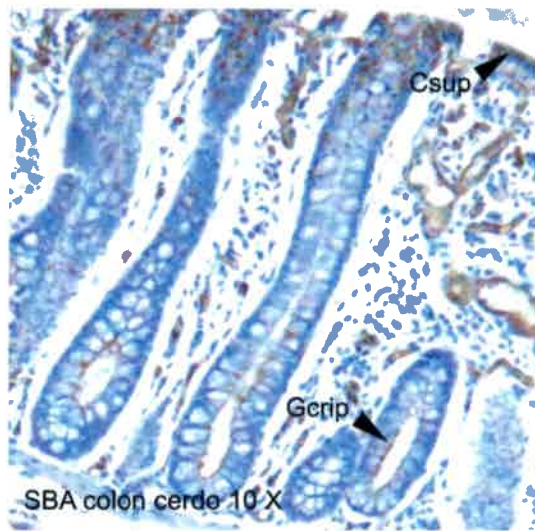


E

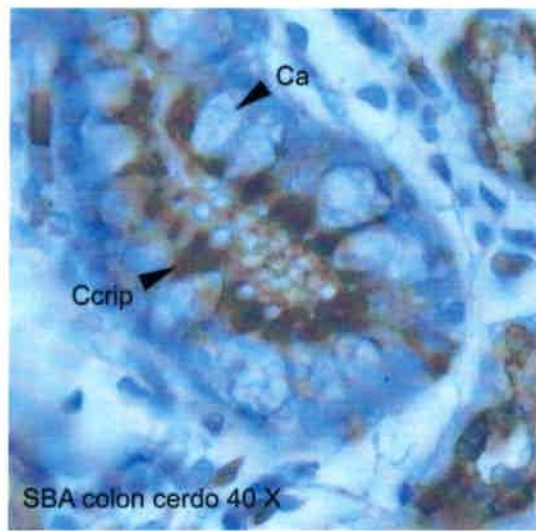


F

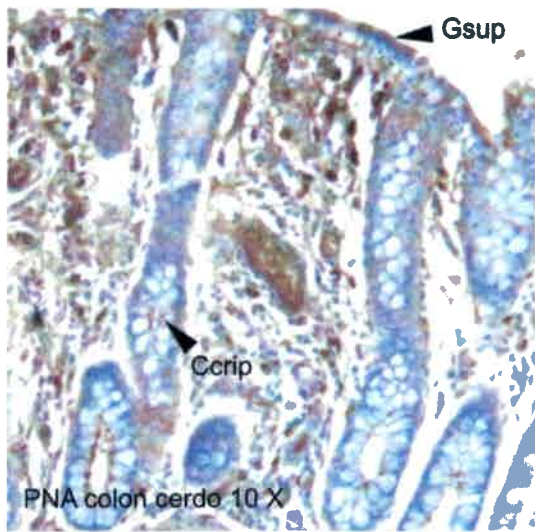
FIGURA 20



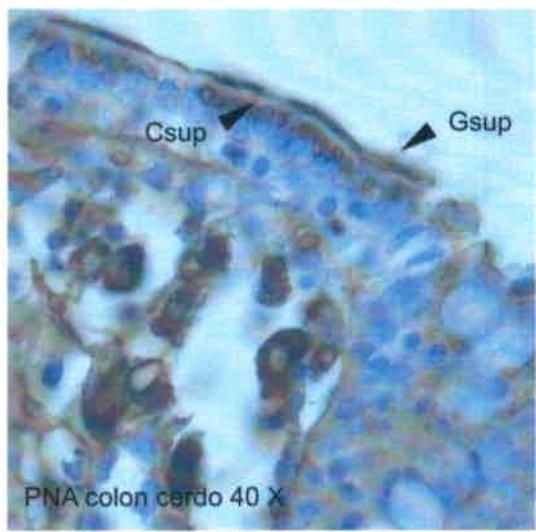
A



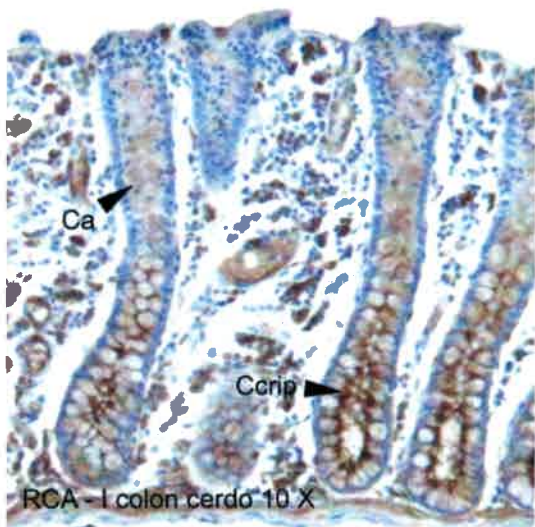
B



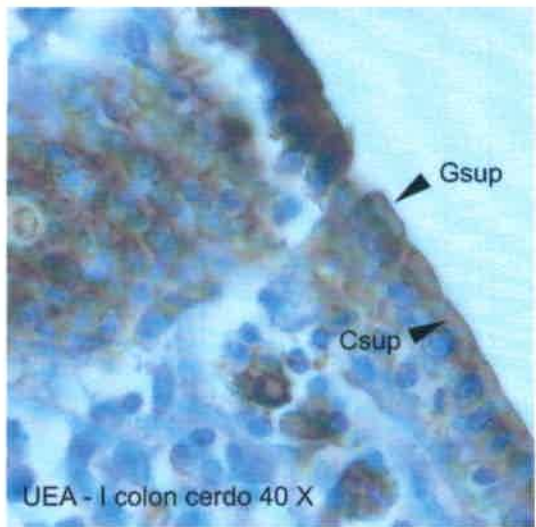
C



D



E



F

COLON DE CONEJO

La tabla 11 resume la información sobre los resultados de estas técnicas.

Técnica de PAS

El citoplasma de los enterocitos, el glicocálix y las células caliciformes se colorean con la técnica de PAS. El contenido de las células caliciformes se observa fuertemente positivo.

Lectinhistoquímica

CON A: el glicocálix del enterocito de la superficie se marca más intensamente (+) que el de la cripta (+/-). Del mismo modo, el citoplasma del enterocito de la superficie (++) se evidencia más intensamente que el de la cripta (+). Figuras 21 - A; 21 -B.

WGA: se evidencian algunas células caliciformes (+). Se observa el glicocálix de los enterocitos de la superficie (++) y, con la misma intensidad, el citoplasma de los enterocitos de la superficie y de la cripta (+). Figuras 21 - C; 21 - D.

DBA: se observa la marcación de las células caliciformes (+) en forma heterogénea, solo algunas son positivas. Figuras 21 - E; 21 - F.

SBA: se evidencian las células caliciformes (+). Ellas se marcan de forma heterogénea. Figuras 22 - A; 22 - B.

PNA: la lectina se une al glicocálix de los enterocitos de las criptas (++) y en el citoplasma de los enterocitos de la superficie (++) . Figuras 22 - C; 22 - D.

RCA – I: se marcan algunas células caliciformes (+). Figuras 22 - E.

UEA – I: se evidencian las células caliciformes (+/++), pero de forma desigual porque solo algunas muestran una marcación mayor. Figuras 22 - F.

Tabla 11: resultados de la técnica de PAS y lectinohistoquímica en el epitelio del colon del conejo.

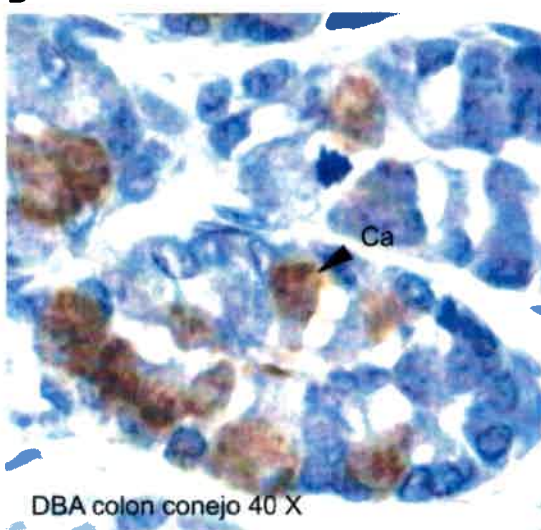
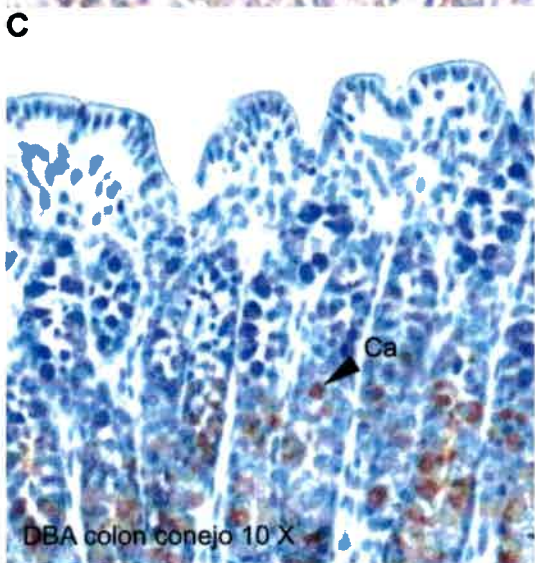
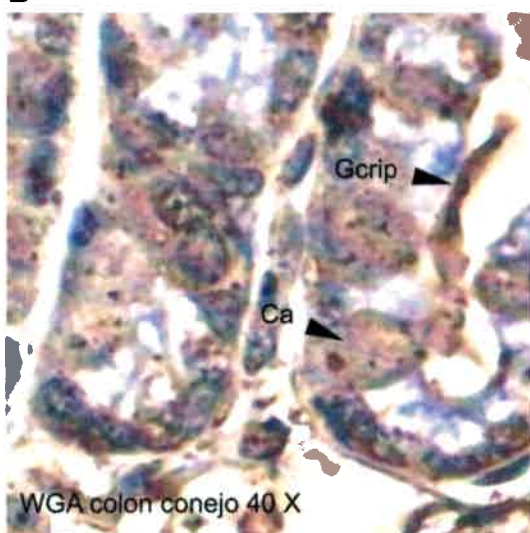
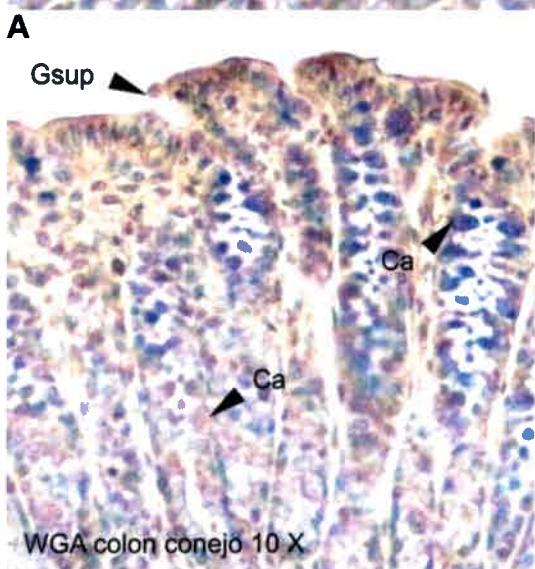
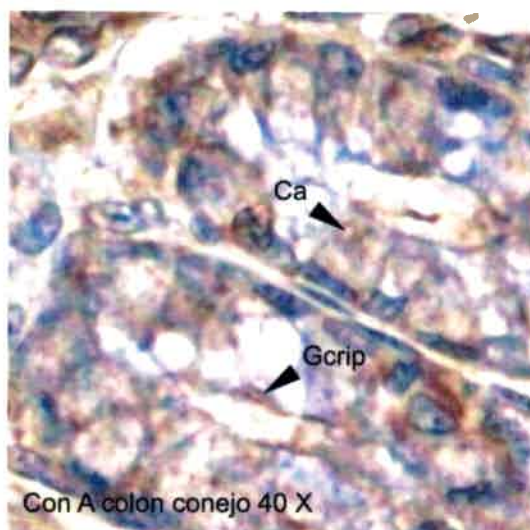
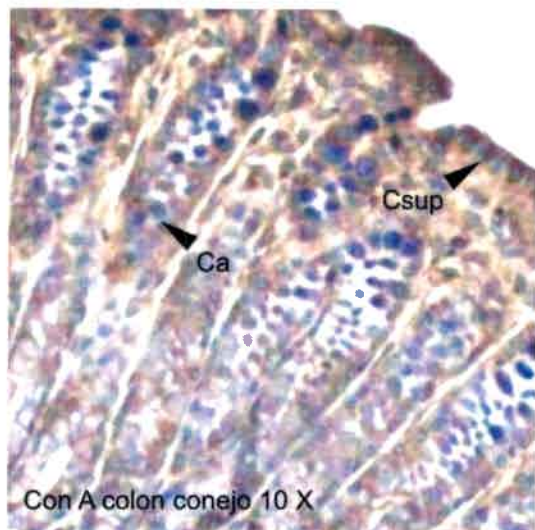
	Glicocáliz enterocito cripta	Citoplasma enterocito cripta	Glicocáliz enterocito superficie	Citoplasma enterocito superficie	Caliciformes
PAS	+++	++	+++	++	+++
CON A	+/-	+	+	++	-
WGA	-	+	++	+	+ ¹
DBA	-	-	-	-	+ ¹
SBA	-	-	-	-	+ ¹
PNA	++	-	-	-	-
RCA - I	-	-	-	-	+ ¹
UEA - I	-	-	-	-	+ / ++

1 – Se marcan algunas células caliciformes.

Figura 21: microfotografía de la mucosa del colon del conejo. A: Marcación con lectina CON A 10 X. B: Marcación con lectina CON A 40 X. C: Marcación con lectina WGA 10 X. D: Marcación con lectina WGA 40 X. E: Marcación con lectina DBA 10 X. F: Marcación con lectina DBA 40 X. Referencias: **Gcrip:** glicocáliz del enterocito de la cripta; **Csup:** citoplasma del enterocito de la superficie; **Gsup:** glicocáliz del enterocito de la superficie; **Ca:** célula caliciforme.

Figura 22: microfotografía de la mucosa del colon del conejo. A: Marcación con lectina SBA 10 X. B: Marcación con lectina SBA 40 X. C: Marcación con lectina PNA 10 X. D: Marcación con lectina PNA 40 X. E: Marcación con lectina RCA - I 40 X. F: Marcación con lectina UEA - I 40 X. Referencias: **Ccrip:** citoplasma del enterocito de la cripta **Gcrip:** glicocáliz del enterocito de la cripta; **Csup:** citoplasma del enterocito de la superficie; **Ca:** célula caliciforme.

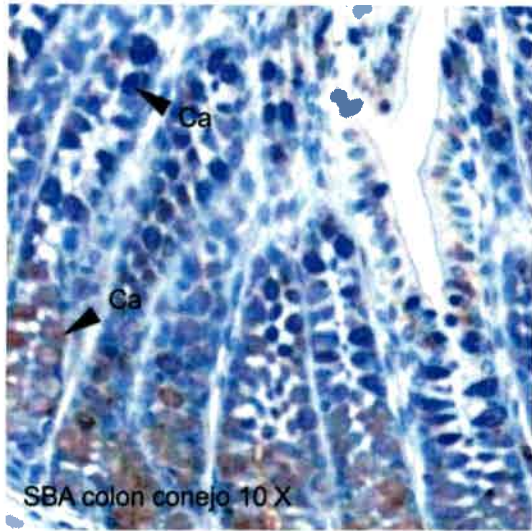
FIGURA 21



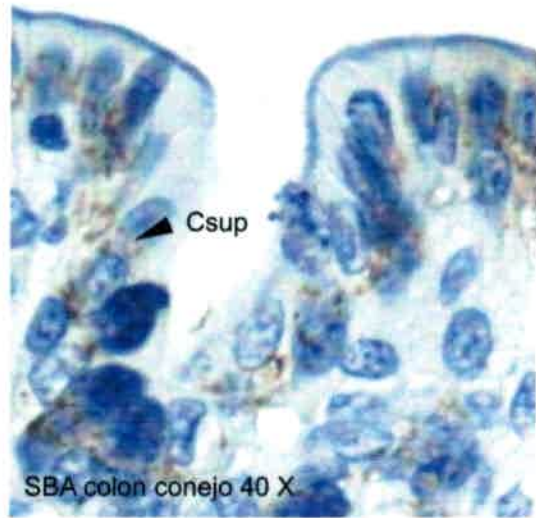
E

F

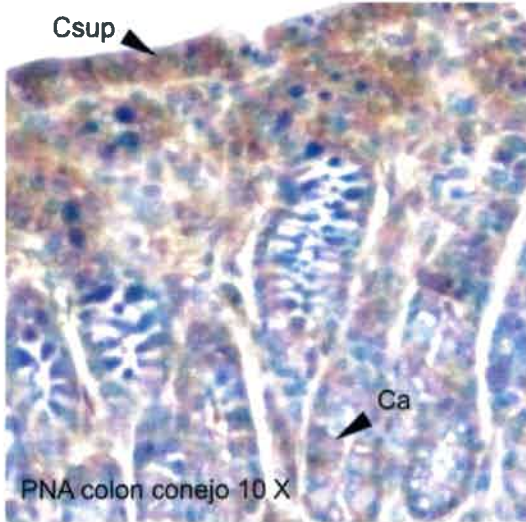
FIGURA 22



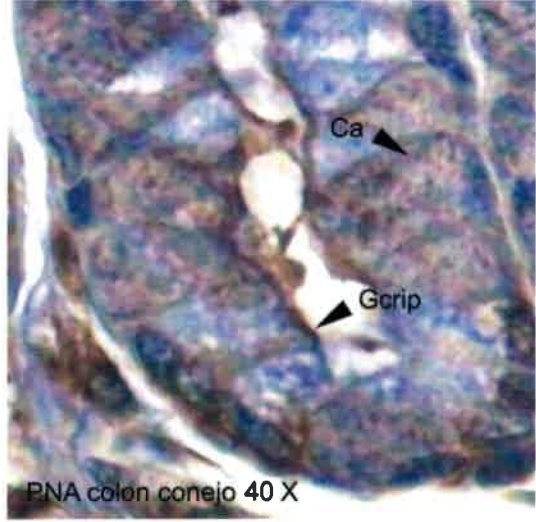
A



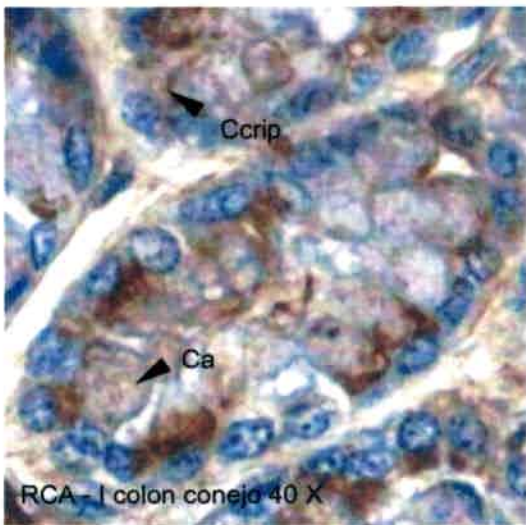
B



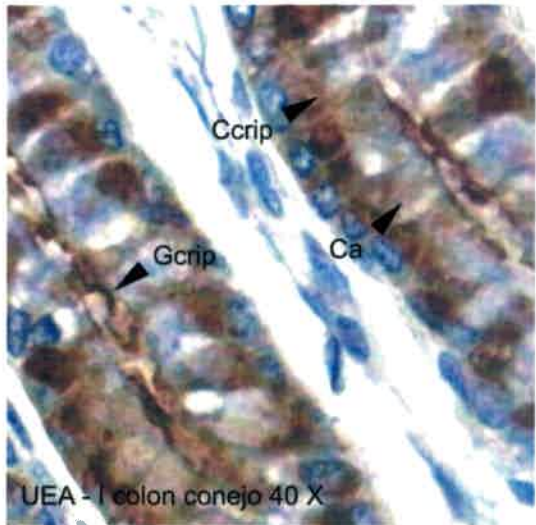
C



D



E



F

RECTO DE EQUINO

La información sobre los resultados de estas técnicas se resume en la tabla 12.

Técnica de PAS

El glicocálix, el citoplasma de los enterocitos y el contenido de las células caliciformes se tiñen con la técnica de PAS.

Lectinhistoquímica

CON A: el citoplasma de los enterocitos de la cripta y de la superficie se evidencian con la misma intensidad (+). También se observa marcación en el glicocálix de la superficie (+). Figuras 23 - A; 23 - B.

WGA: se observa una marcación más intensa en el glicocálix de los enterocitos de la superficie (++) que en el de la cripta (+). El citoplasma de los enterocitos de la cripta se evidencia con la misma intensidad que el de la superficie (+). Las células caliciformes son positivas (+). Figuras 23 - C; 23 - D.

DBA: se observa marcación el glicocálix (++) y en el citoplasma (+) de los enterocitos de la superficie. Las células caliciformes se marcan en forma heterogénea (++) con predominio en la superficie de la mucosa. Figuras 23 - E; 23 - F.

SBA: se marcan el glicocálix (++) y el citoplasma de los enterocitos de la superficie (+). En ellos se observa la marcación en forma supranuclear. Las células caliciformes son positivas (+) con predominio de la marcación en la superficie de la mucosa. Figuras 24 - A; 24 - B.

PNA: se observa marcación en forma supranuclear en el citoplasma de los enterocitos de la cripta (+) y de la superficie (++). El glicocáliz del citoplasma de los enterocitos de la superficie es positivo (++). Figuras 24 - C; 24 - D.

RCA – I: se marca el glicocáliz de los enterocitos de la cripta (+), y en forma supranuclear el citoplasma de los enterocitos de la superficie (+). La marcación de las células caliciformes es poco evidente (+/-). Figuras 24 - E.

UEA – I: el glicocáliz de los enterocitos de la cripta y de la superficie se evidencian con la misma intensidad (++). Del mismo modo, el citoplasma de los enterocitos de la cripta y de la superficie marcan igual (+). Las células caliciformes se observan positivas (++), con marcación en las membranas de las vesículas secretorias. Figuras 24 - F.

Tabla 12: resultados de la técnica de PAS y lectinhistoquímica en el epitelio del recto del equino.

	Glicocáliz enterocito cripta	Citoplasma enterocito cripta	Glicocáliz enterocito superficie	Citoplasma enterocito superficie	Caliciformes
PAS	+++	++	+++	++	+++
CON A	-	+	+	+	-
WGA	+	+	++	+	+
DBA	-	-	++	+	++ ¹
SBA	-	-	++	+ ²	+ ³
PNA	-	+ ²	++	++ ²	-
RCA - I	+	-	-	+ ²	+/-
UEA - I	++	+	++	+	++

1 – Las células caliciformes se marcan de forma heterogénea, en la superficie.

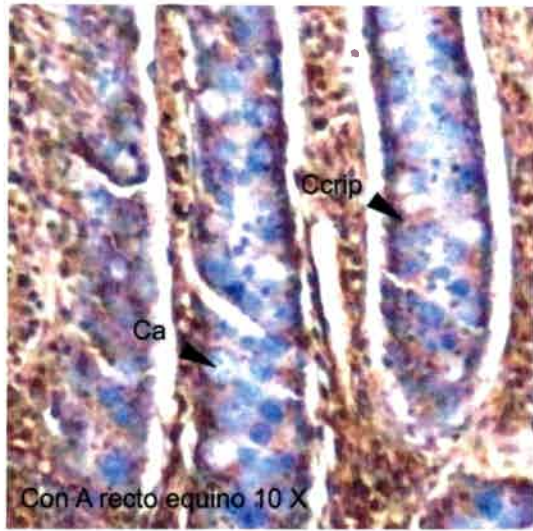
2 – Se observa marcación en forma supranuclear.

3 – Se evidencia marcación en las células caliciformes de la superficie.

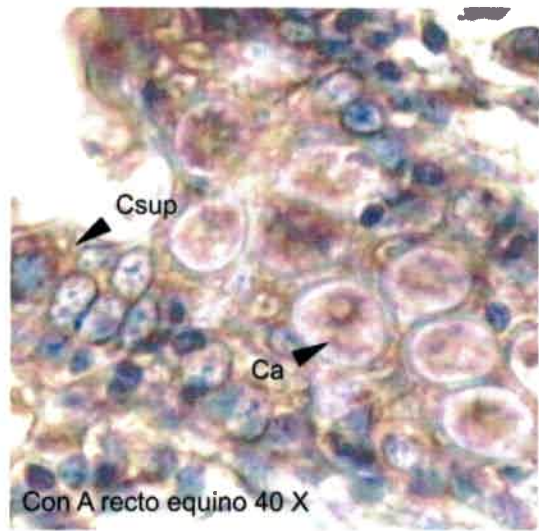
Figura 23: microfotografía de la mucosa del recto del equino. A: Marcación con lectina CON A 10 X. B: Marcación con lectina CON A 40 X. C: Marcación con lectina WGA 10 X. D: Marcación con lectina WGA 40 X. E: Marcación con lectina DBA 10 X. F: Marcación con lectina DBA 40 X. Referencias: **Ccrip:** citoplasma del enterocito de la cripta; **Gcrip:** glicocáliz del enterocito de la cripta; **Csup:** citoplasma del enterocito de la superficie; **Ca:** célula caliciforme.

Figura 24: microfotografía de la mucosa del recto del equino. A: Marcación con lectina SBA 10 X. B: Marcación con lectina SBA 40 X. C: Marcación con lectina PNA 10 X. D: Marcación con lectina PNA 40 X. E: Marcación con lectina RCA - I 40 X F: Marcación con lectina UEA - I 40 X. Referencias: **Ccrip**: citoplasma del enterocito de la cripta; **Gcrip**: glicocáliz del enterocito de la cripta; **Csup**: citoplasma del enterocito de la superficie; **Gsup**: glicocáliz del enterocito de la superficie; **Ca**: célula caliciforme.

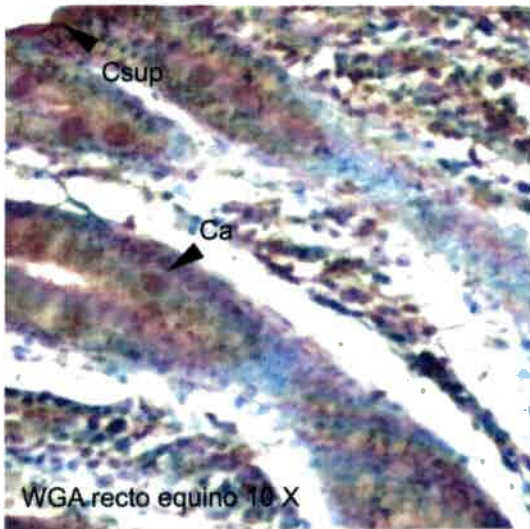
FIGURA 23



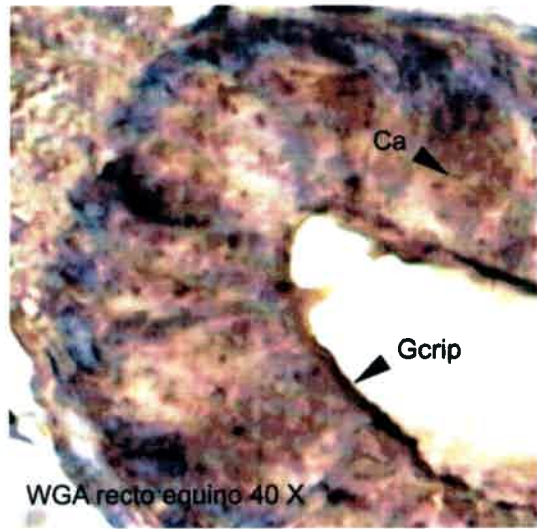
A



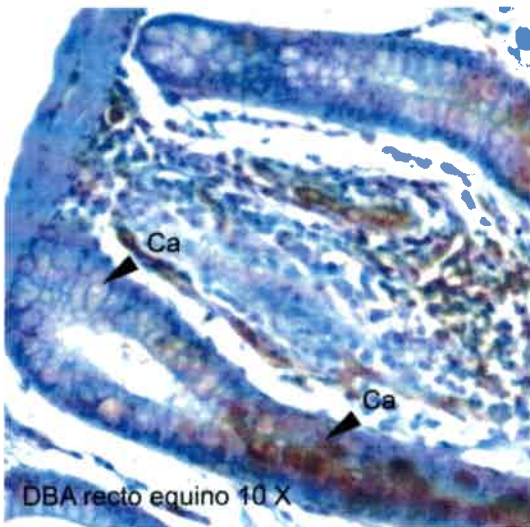
B



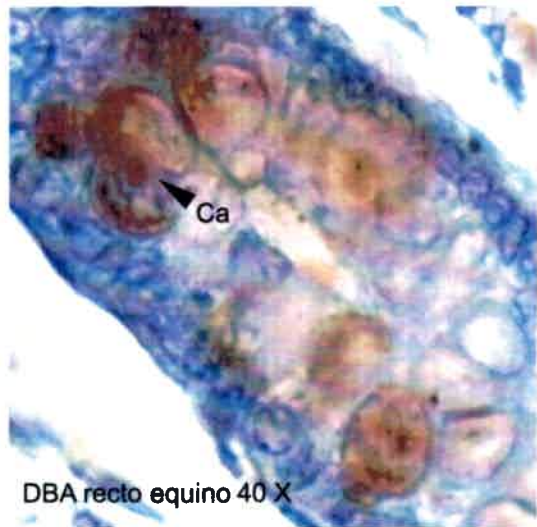
C



D

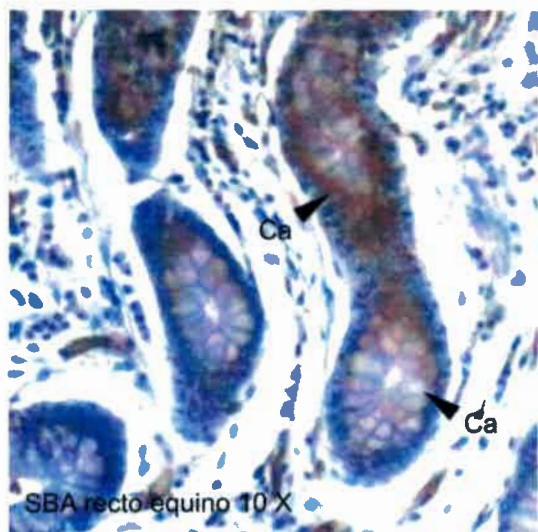


E

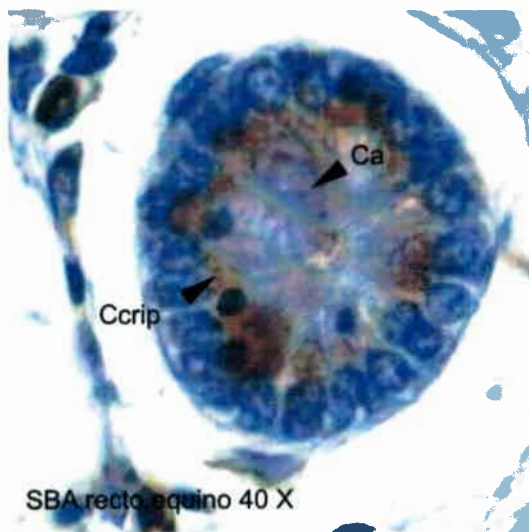


F

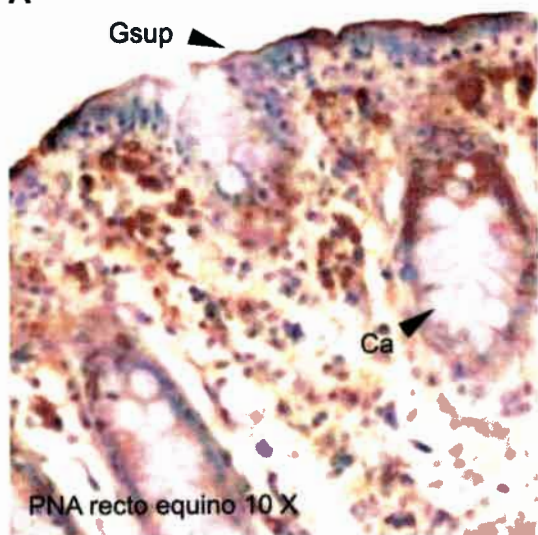
FIGURA 24



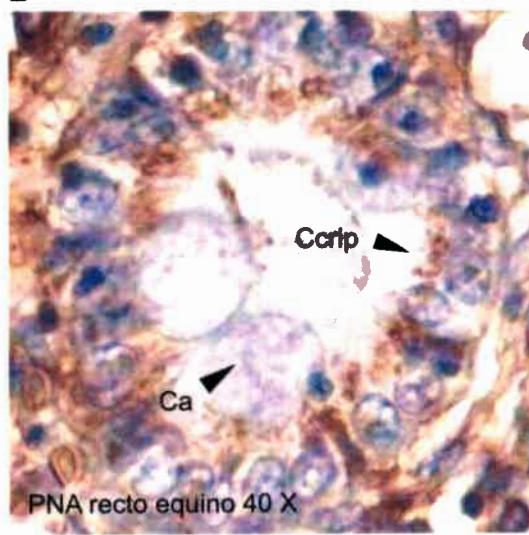
A



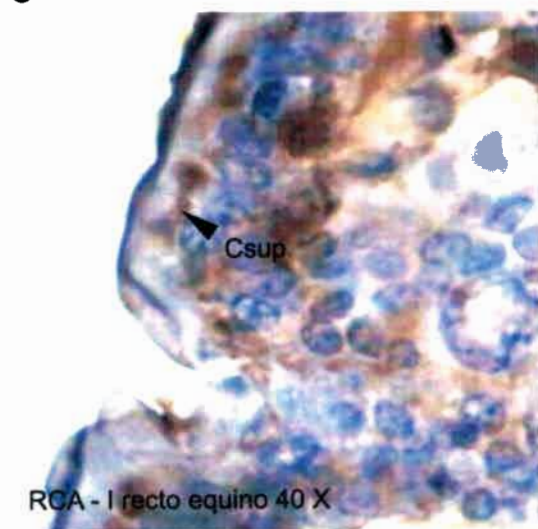
B



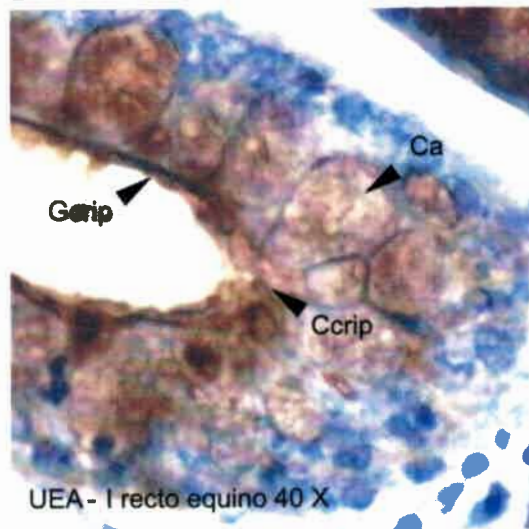
C



D



E



F

RECTO DE CERDO

En la tabla 13 está resumida la información sobre los resultados de estas técnicas.

Técnica de PAS

Los enterocitos, el glicocálix y las células caliciformes se tiñen con la técnica de PAS. El contenido de las células caliciformes se observa fuertemente positivo y homogéneo.

Lectin histoquímica

CON A: se evidencia el citoplasma de los enterocitos de la vellosidad (+). Algunas células caliciformes son positivas (+). Figuras 25 - A; 25 - B.

WGA: el glicocálix de las células de la cripta y de la superficie se evidencian de manera similar (++). El citoplasma de los enterocitos de la cripta es positivo (+), siendo más notable la marcación en la zona supranuclear. El citoplasma de los enterocitos de la superficie se marca con menor intensidad (+). Figuras 25 - C; 25 - D.

DBA: se observa marcación en el glicocálix de las células de la superficie (++), en el citoplasma de los enterocitos de la superficie (+) y en las células caliciformes (+). Con respecto a estas últimas, la marcación es desigual y las células positivas son heterogéneas, observándose marcación solo en algunas vesículas. Figuras 25 - E; 25 - F.

SBA: en general la zona del epitelio positiva se ubica en la superficie. El glicocálix del epitelio de la superficie (++), el citoplasma de los enterocitos de la superficie (+) y las células caliciformes (++) son positivas. El citoplasma de los

enterocitos de la superficie se marcan en forma supranuclear. Las células caliciformes se marcan de manera heterogénea y solo algunas vesículas son positivas. Figuras 26 - A; 26 - B.

PNA: se evidencia el glicocáliz de las células de la superficie (++) y el citoplasma de los enterocitos en forma supranuclear (+). Figuras 26 - C; 26 - D.

RCA – I: se evidencian el glicocáliz de la cripta (+) y el de la superficie (++)). El citoplasma de los enterocitos de la cripta (++) es positivo en la zona supranuclear, mientras que el citoplasma de los enterocitos de la superficie se marcan menos intensamente (+). Las células caliciformes son positivas (++) y muestran una imagen granular. Figuras 26 - E.

UEA – I: no se evidencia marca en el epitelio. Figuras 26 - F.

Tabla 13: resultados de la técnica de PAS y lectinhistoquímica en el epitelio del recto de cerdo.

	Glicocáliz cripta	Citoplasma enterocito cripta	Glicocáliz superficie	Citoplasma enterocito superficie	Caliciformes
PAS	+++	++	+++	++	+++
CON A	-	-	-	+ ¹	+ ²
WGA	++	+ ³	++	+	-
DBA	-	-	++	+	+ ⁴
SBA	-	-	++	+	++ ⁴
PNA	-	-	++	+ ⁵	-
RCA - I	+	++ ⁵	++	+	++ ⁴
UEA - I	-	-	-	-	-

1 - Se observa una imagen granular.

2 - Las células caliciformes marcadas son escasas.

3 - En la región supranuclear la marcación es más intensa (++).

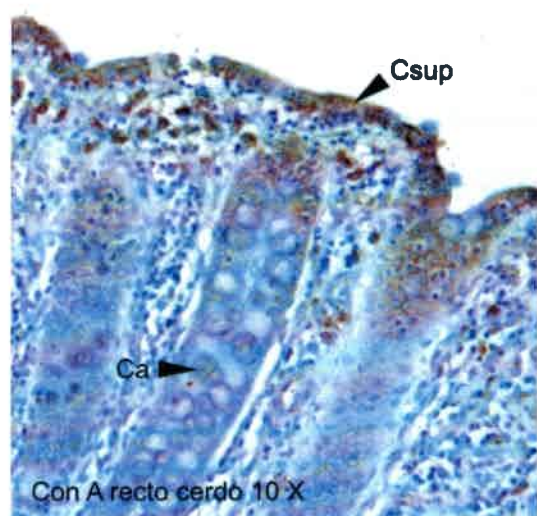
4 - Las células caliciformes positivas muestran marcación en algunas vesículas.

5 - Se observa marca en la zona supranuclear.

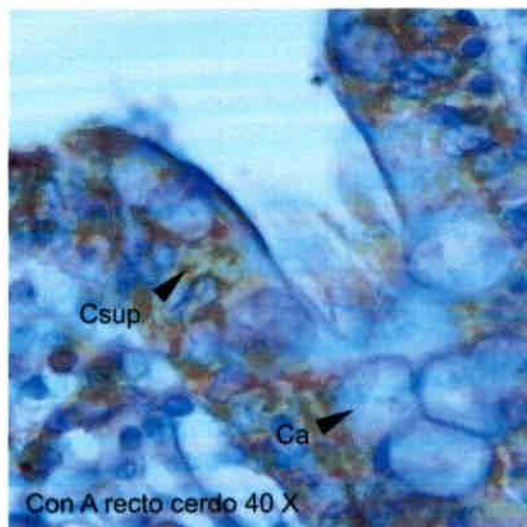
Figura 25: microfotografía de la mucosa del recto del cerdo. A: Tinción de PAS 10 X. B: Marcación con lectina CON A 10 X. C: Marcación con lectina WGA 10 X. D: Marcación con lectina WGA 40 X. E: Marcación con lectina DBA 10 X. F: Marcación con lectina DBA 40 X. Referencias: **Gcrip:** glicocáliz del enterocito de la cripta; **Csup:** citoplasma del enterocito de la superficie; **Gsup:** glicocáliz del enterocito de la superficie; **Ca:** célula caliciforme.

Figura 26: microfotografía de la mucosa del recto del cerdo. A: Marcación con lectina SBA 10 X. B: Marcación con lectina SBA 40 X. C: Marcación con lectina PNA 10 X. D: Marcación con lectina PNA 40 X. E: Marcación con lectina RCA - I 40 X F: Marcación con lectina UEA - I 10 X. Referencias: **Ccrip:** citoplasma del enterocito de la cripta; **Gcrip:** glicocáliz del enterocito de la cripta; **Csup:** citoplasma del enterocito de la superficie; **Gsup:** glicocáliz del enterocito de la superficie; **Ca:** célula caliciforme.

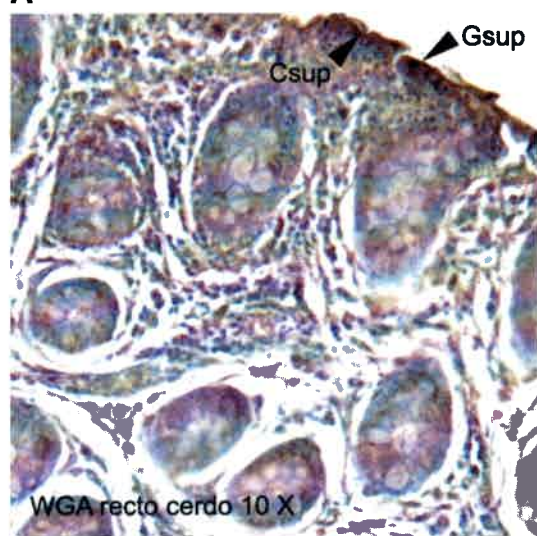
FIGURA 25



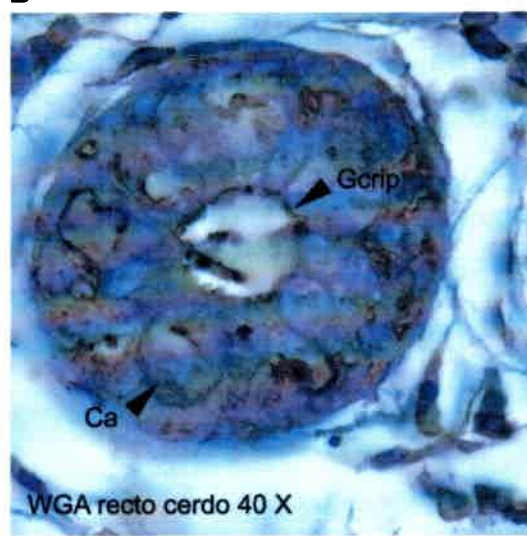
A



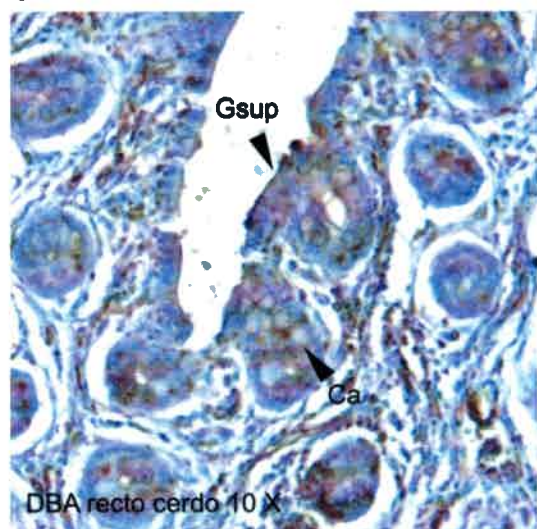
B



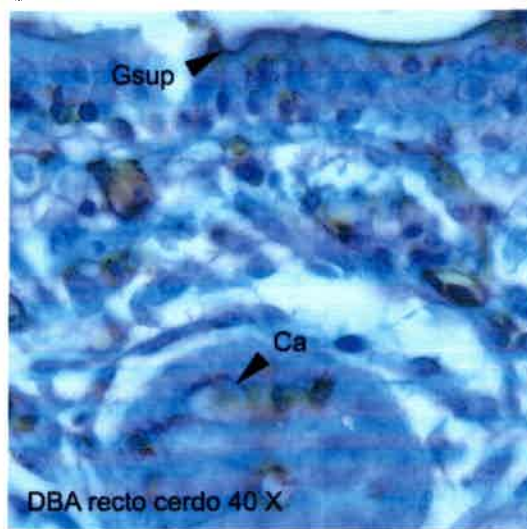
C



D

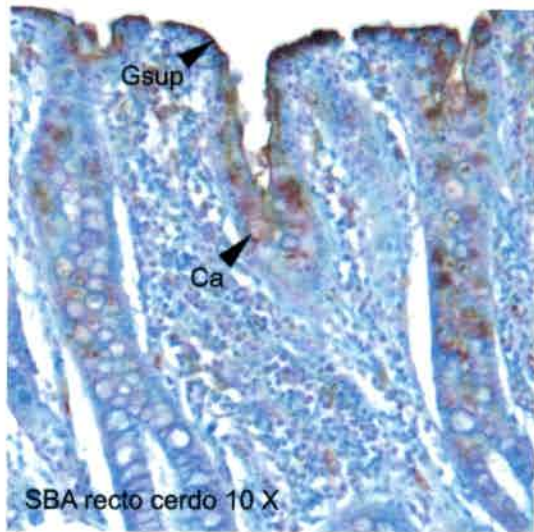


E

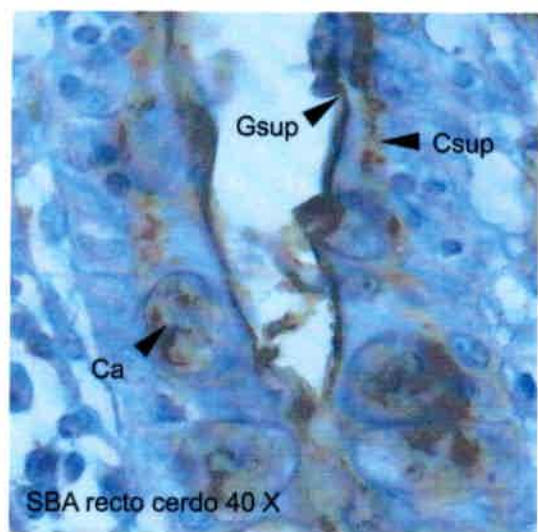


F

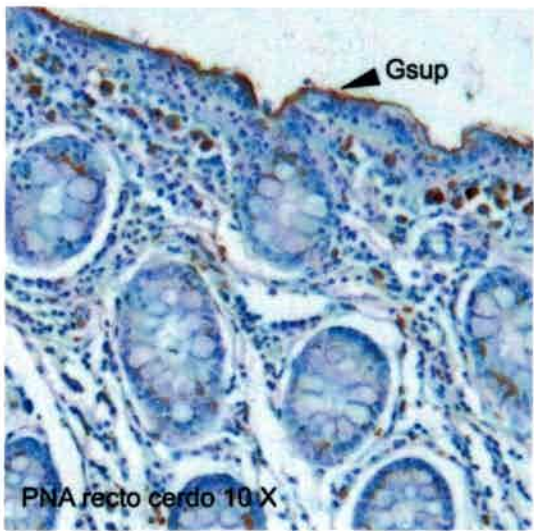
FIGURA 26



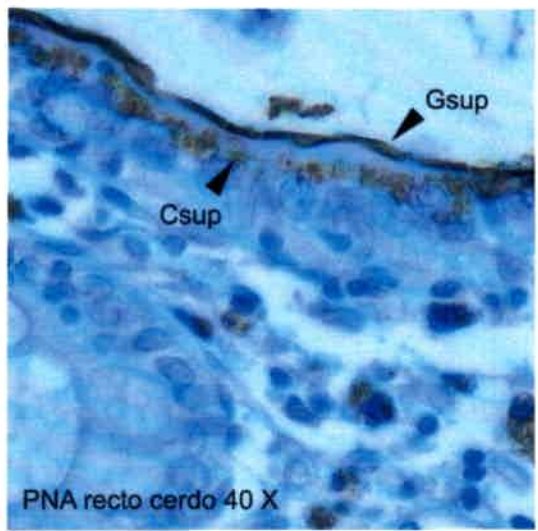
A



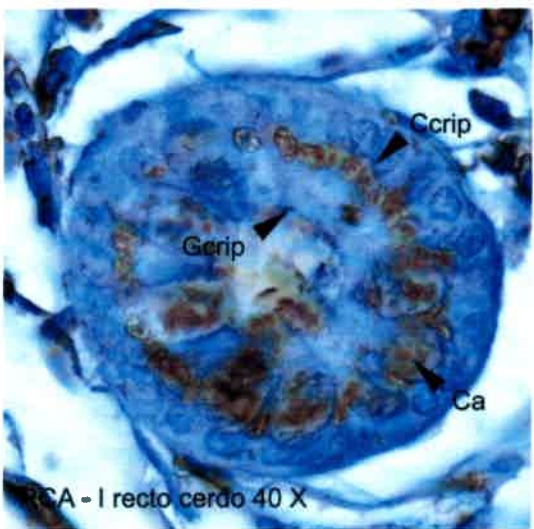
B



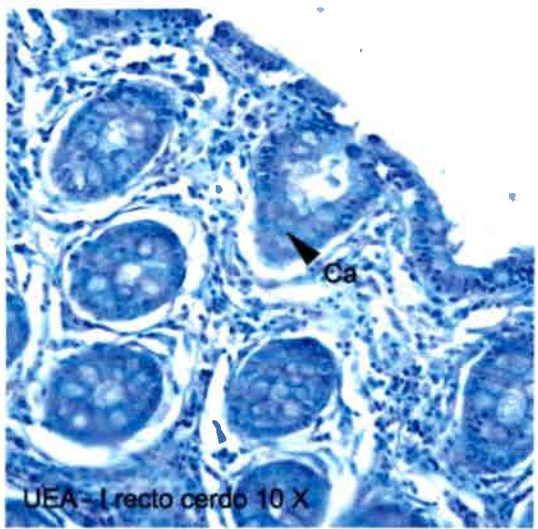
C



D



E



F

RECTO DE CONEJO

En la tabla 14 se resume la información sobre los resultados de estas técnicas.

Técnica de PAS

Con la técnica de PAS se colorea el glicocálix, el citoplasma de los enterocitos y las células caliciformes. El contenido de las células caliciformes se tiñe de forma homogénea.

Lectinohistoquímica

CON A: se observa marcación en el citoplasma de los enterocitos de la cripta (+) y de la superficie (++) . Las células caliciformes se marcan en forma heterogénea (+). Figuras 27 - A; 27 - B.

WGA: se evidencian con la misma intensidad el glicocálix de los enterocitos de la cripta y de la superficie (++) . El citoplasma de los enterocitos de la cripta y de la superficie se marcan con la misma intensidad (+). Las células caliciformes son positivas (+), y se evidencian de manera heterogénea. Figuras 27 - C; 27 - D.

DBA: se observa marcación en las células caliciformes (++) . Estas se evidencian de forma heterogénea y en el fondo de las criptas intestinales. Figuras 27 - E; 27 - F.

SBA: con esta lectina se evidencian algunas células caliciformes (+), en las criptas intestinales. El citoplasma de los enterocitos de la superficie se observa positivo (+). Figuras 28 - A; 28 - B.

PNA: no se evidencia marcación en el epitelio intestinal con esta lectina.

RCA – I: se observa marcación en la zona supranuclear del citoplasma de los enterocitos de la cripta (+). Las células caliciformes se evidencian en forma heterogénea (+). Figuras 28 - C; 28 - D.

UEA – I: la lectina se une al glicocáliz de los enterocitos de la cripta (+) y también se fija en las células caliciformes (++) . Con respecto a estas últimas, la marcación es desigual porque existen algunas que no la evidencian. Figuras 28 - E; 28 - F.

Tabla 14: resultados de la técnica de PAS y lectinohistoquímica en el epitelio del recto del conejo.

	Glicocáliz enterocito cripta	Citoplasma enterocito cripta	Glicocáliz enterocito superficie	Citoplasma enterocito superficie	Caliciformes
PAS	+++	++	+++	++	+++
CON A	-	+	-	++	+ ¹
WGA	++	+	++	+	+ ¹
DBA	-	-	-	-	++ ¹
SBA	-	-	-	+	++ ¹
PNA	-	-	-	-	-
RCA - I	-	+ ²	-	-	+ ¹
UEA - I	+	-	-	-	++ ¹

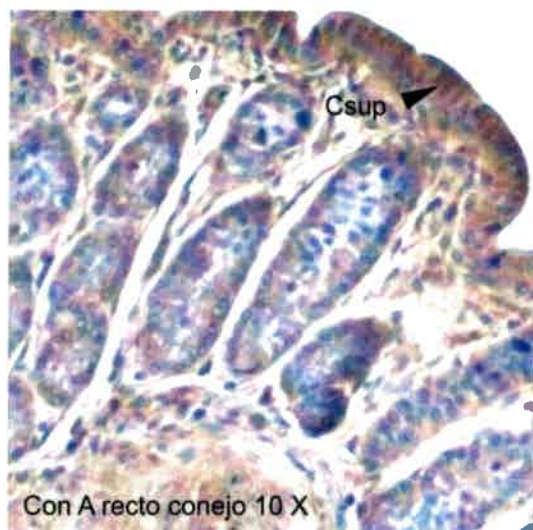
1 – La marcación de las células caliciformes es heterogénea, solo son positivas algunas células.

2 – Se evidencia la zona supranuclear.

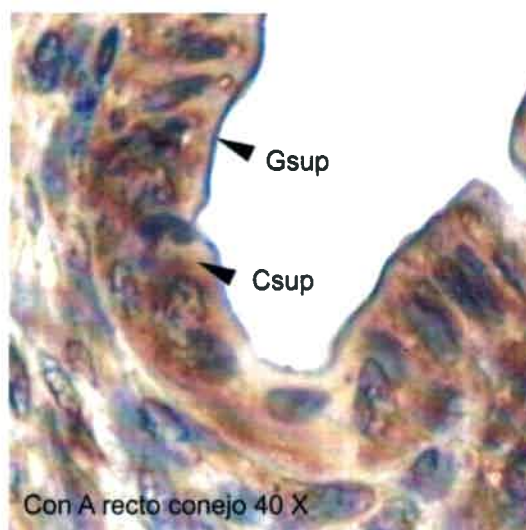
Figura 27: microfotografía de la mucosa del recto del conejo. A: Marcación con lectina CON A 10 X. B: Marcación con lectina CON A 40 X. C: Marcación con lectina WGA 10 X. D: Marcación con lectina WGA 40 X. E: Marcación con lectina DBA 10 X. F: Marcación con lectina DBA 40 X. Referencias: **Gcrip:** glicocáliz del enterocito de la cripta; **Csup:** citoplasma del enterocito de la superficie; **Gsup:** glicocáliz del enterocito de la superficie; **Ca:** célula caliciforme.

Figura 28: microfotografía de la mucosa del recto del conejo. A: Marcación con lectina SBA 10 X. B: Marcación con lectina SBA 40 X. C: Marcación con lectina RCA - I 40 X. D: Marcación con lectina RCA - I 40 X. E: Marcación con lectina UEA - I 10 X F: Marcación con lectina UEA - I 40 X. Referencias: **Ccrip:** citoplasma del enterocito de la cripta; **Ca:** célula caliciforme.

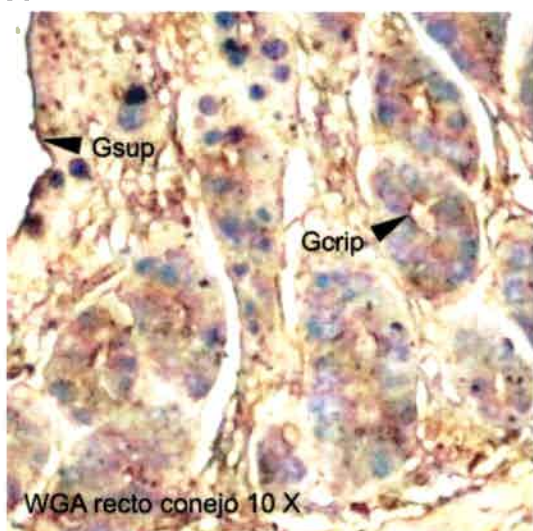
FIGURA 27



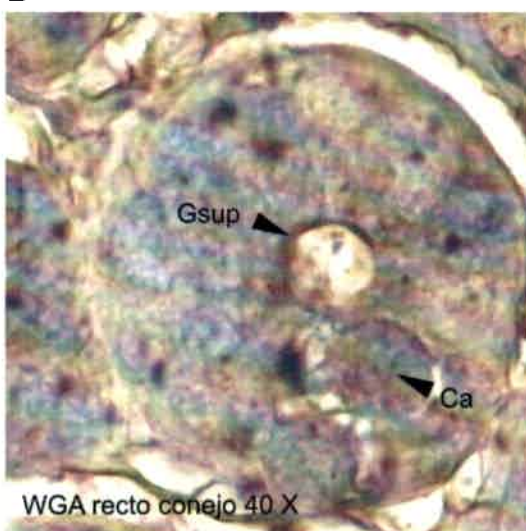
A



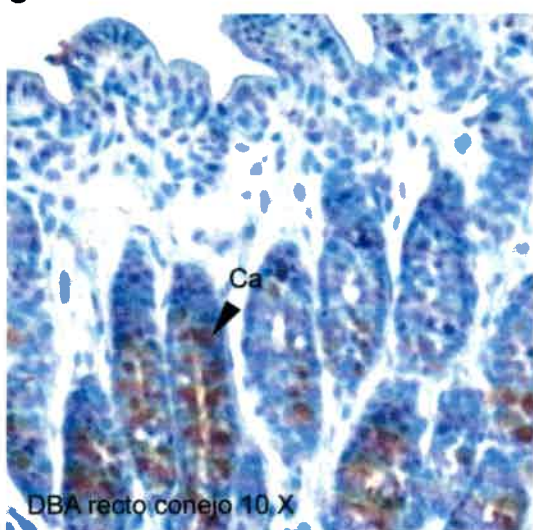
B



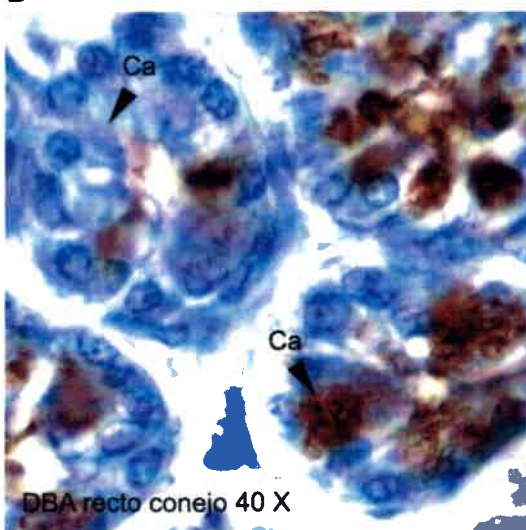
C



D

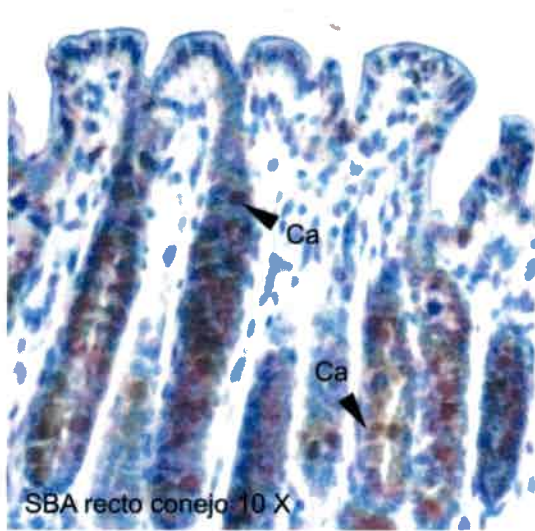


E

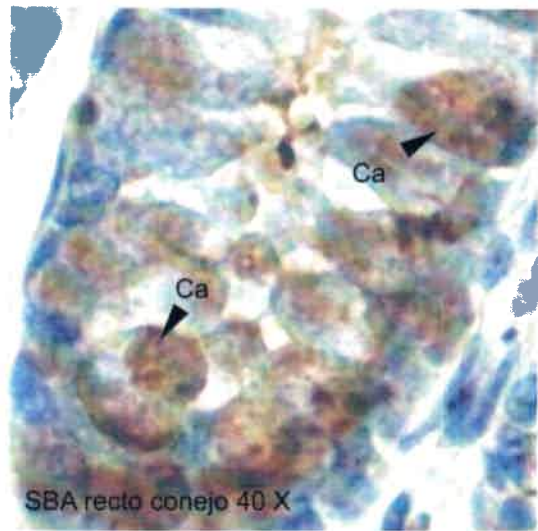


F

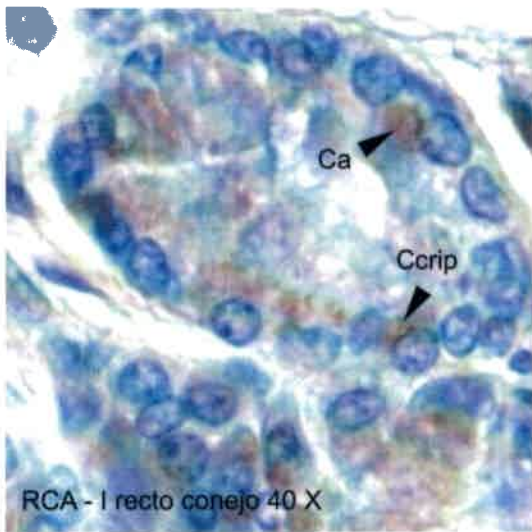
FIGURA 28



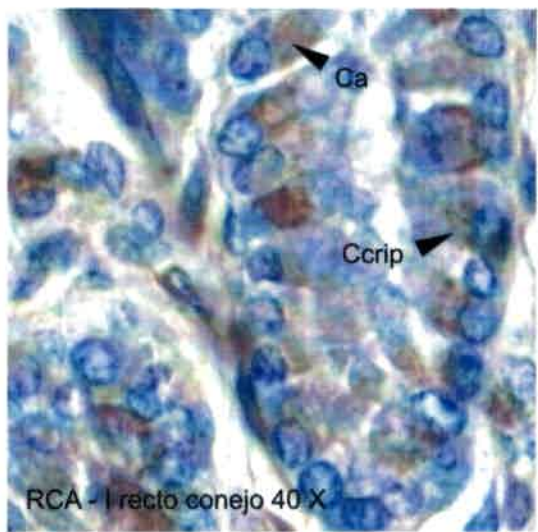
A



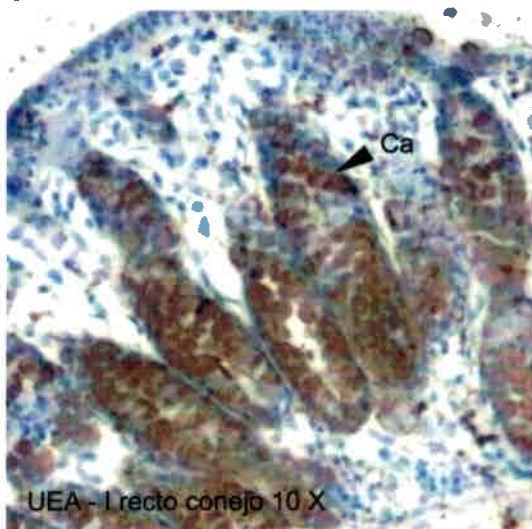
B



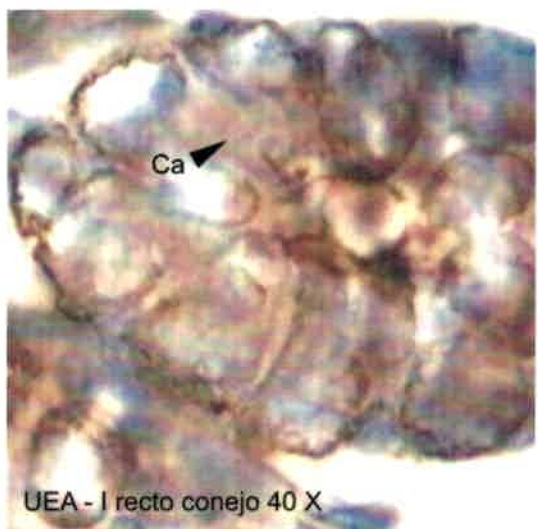
C



D



E



F

5

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Mediante la técnica de PAS se demuestra en este trabajo la presencia de glúcidos en las células caliciformes y en los enterocitos. El resultado descrito es observado en las tres especies estudiadas y en todos los sectores del intestino analizados. Además, concuerda con lo expresado en la bibliografía clásica (Ross *et al.*, 1997; Geneser, 2000). La lectinohistoquímica, por el contrario, evidencia que estos carbohidratos son variables según el tipo celular, el sector del intestino y la especie considerados (Spicer y Schulte, 1992).

La marcación con lectina CON A es negativa para las células caliciformes, con excepción de algunas células de recto de cerdo y equino. Esto demuestra la ausencia de radicales de manosa y glucosa terminales en la mucina de la mayoría de estas células. El dato coincide con lo encontrado en el hombre, donde la mucina de las células caliciformes intestinales posee residuos de L-fucosa, N-acetilgalactosamina, N-acetilglucosamina, D-galactosa, ácido siálico, pero no de glucosa y manosa (Jass y Walsh, 2001).

Los resultados obtenidos con la lectina CON A también son coincidentes con los encontrados en el yeyuno del hombre (Vecchi *et al.*, 1987), y en el íleon del bovino (Massone *et al.*, 1991). En el caso del íleon del cerdo concuerdan con los descritos por More *et al.* (1987) y por Chae (1997), pero difieren de los publicados por Sohn y Chae (2000) y también por Choi *et al.* (2003). Una causa posible de esta diferencia es la edad de los animales estudiados. En el

estudio realizado por Chae (1997) los cerdos tenían tres semanas de vida; en los trabajos de Sohn y Chae (2000) y Choi **et al.** (2003), los animales tenían una semana de edad. Por otro lado, Jaeger **et al.** (1989), Gelberg **et al.** (1992) y Chae y Lee (1995) describen diferencias en la afinidad de la unión de las lectinas entre cerdos de distinta edades y también entre distintas regiones intestinales del mismo grupo de animales.

La existencia de heterogeneidad en la marcación con CON A en las células caliciformes del intestino grueso coincide con lo observado en el colon de rata por Freeman **et al.** (1980). La observación de algunas células positivas frente a CON A en el recto del cerdo y del equino demuestra las diferencias sectoriales en la composición del mucus, lo que podría relacionarse con diferencias funcionales de cada sector. La presencia de residuos de glucosa y manosa en el mucus del intestino grueso fue descrita en el hombre (Fischer **et al.**, 1983; Madrid **et al.**, 2000) y nuestros resultados parecen confirmar que, al menos en la mayoría de las especies, este es el único sector intestinal que posee oligosacáridos que contengan estos residuos en posición terminal.

El comportamiento de la marcación de los enterocitos con CON A no indica un patrón que pueda relacionarse con el eje craneo-caudal del intestino. Así, mientras en el conejo la marcación se hace más intensa hacia el intestino grueso, en el cerdo, la lectina CON A muestra una mayor afinidad en el intestino delgado, en especial en íleon. En el equino la menor afinidad se encuentra en el colon. Estos datos no pueden ser comparados con otras especies ya que no se han encontrado trabajos previos que analicen la distribución del patrón de CON A a lo largo del intestino.

Con respecto a la lectina WGA, el patrón de marcación en las células caliciformes es heterogéneo, tanto para las distintas especies, como para los distintos sectores intestinales. En el conejo, la intensidad de la marcación es escasa, llegando a ser negativa en íleon. En equino la marcación también es leve, excepto en el íleon donde es intensa. Al analizar los resultados encontrados en la bibliografía se corrobora esta heterogeneidad. Así, observamos que la marcación con WGA es elevada en el íleon del bovino (Massone **et al.**, 1991), mientras que en el hombre se evidencian con esta lectina tanto las células caliciformes del intestino delgado como las del grueso (Fischer **et al.**, 1983). Es extraño lo descrito en el cerdo porque la marcación es importante en todos los sectores analizados, excepto en el recto. La fuerte marcación en el íleon de esta especie coincide con lo observado en trabajos previos (Chae, 1997), aunque Sohn y Chae (2000) estudiando animales más jóvenes comunican que no existe marcación de las células caliciformes con WGA. Por otro lado, no se encontró en ninguna de las especies estudiadas diferencias de marcación en el eje cripta-vellosidad tal como Vecchi **et al.** (1987) describen en el hombre.

Los enterocitos se marcaron con WGA en todos los sectores estudiados, lo que concuerda con lo encontrado en el yeyuno y en el íleon de cerdo (Sohn y Chae, 2000; Choi **et al.**, 2003). Es extraño el patrón supranuclear del recto de cerdo que no se observa en otras localizaciones y que podría estar relacionado con la positividad en el aparato de Golgi.

La lectina DBA marca en forma heterogénea las células caliciformes de los distintos sectores intestinales, con excepción del colon de cerdo en el que

no hay marcación. En algunos casos, como en el intestino grueso del conejo, las células positivas predominan en el fondo de la cripta, dato que concuerda con lo expresado por Doehrn **et al.** (1992) en el ciego del ratón. Sin embargo en el intestino grueso del equino y en el yeyuno del conejo las células marcadas predominan en la superficie. La positividad a la marcación con esta lectina ya había sido observada en las células caliciformes del intestino del hombre (Danguy **et al.**, 1988), del ratón (Danguy **et al.**, 1988) y del bovino (Massone **et al.**, 1991). En el íleon de cerdo de una semana (Sohn y Chae, 2000), y en el yeyuno de animales de la misma edad (Choi **et al.**, 2003), la marcación con DBA fue negativa en estas células. Por el contrario, Chae (1997) en cerdos de tres semanas de edad encontró afinidad por esta lectina en el íleon. Nuestros resultados con cerdos adultos se asemejan a los comunicados por este último autor. Es decir, parece existir un cambio en la composición de la mucina de las células caliciformes del intestino delgado del cerdo a temprana edad, pero luego la misma se mantiene más o menos constante hasta la edad adulta. También se debe tener en cuenta, con el fin de explicar las diferencias de marcación con DBA, la posible existencia de patrones raciales distintos dentro de una misma especie, como se ha observado entre diferentes cepas de ratón (Leedham **et al.**, 2005).

Con respecto a los enterocitos del intestino delgado y del colon del cerdo, no se evidencian en ellos sitios de unión para DBA. En cambio, en el recto se observa marcación en las células superficiales. Este resultado coincide con lo comunicado por Riganti **et al.** (1997). Sin embargo, Chae (1997), Sohn y Chae (2000) y Choi **et al.** (2003) demuestran marcación con esta lectina en el

yeyuno y en el íleon de cerdos jóvenes. Nuevamente, las diferencias con nuestros resultados en esta especie podrían deberse a la edad de los animales estudiados. La existencia de variaciones etarias en la composición de glicoconjugados intestinales fue descrita en otras especies como la rata por Caldero **et al.** (1988), en distintas estructuras del intestino como células caliciformes, superficie luminal y región supranuclear de los enterocitos. En el recto del equino se encuentra un resultado positivo como en el cerdo, pero también hay marcación en otros sectores del intestino como el yeyuno y la base de las criptas de íleon y colon. En el conejo, no se evidenciaron sitios de unión para DBA en el intestino grueso. Con respecto al intestino delgado de esta especie, el patrón de marcación es extraño, ya que en el íleon la positividad es mayor en el fondo de las criptas intestinales mientras que en el yeyuno lo es en la superficie. Los resultados de las dos últimas especies muestran que el íleon es la región con mayor afinidad para esta lectina. En el intestino grueso la marcación con DBA fue positiva en el ratón y el hombre (Danguy **et al.**, 1988; Doehrn **et al.**, 1992). También se encontró una gran positividad en íleon de bovinos (Massone **et al.**, 1991) y una marcación, aunque menos intensa, en el yeyuno humano (Vecchi **et al.**, 1987). Al reunir nuestros resultados y los de los distintos autores se demuestra que, en general, los enterocitos son positivos para esta lectina, excepto algunos sectores del intestino del cerdo.

La lectina SBA marca las células caliciformes, excepto en el colon de caballo y cerdo. La marcación en intestino delgado de cerdo coincide con lo encontrado en trabajos previos realizados en cerdos jóvenes por Chae (1997),

Sohn y Chae (2000) y Choi **et al.** (2003); pero difiere de lo hallado por Jaeger **et al.** (1989) en la misma especie inclusive en animales ya destetados. En el íleon del bovino Massone **et al.** (1991) observan una intensa marcación de las células caliciformes con SBA. Excepto los datos de Jaeger **et al.** (1989), tanto nuestras observaciones como las de otros autores demuestran que el mucus de las células caliciformes del íleon de todas las especies tiene residuos galactosa o N-acetilgalactosamina. La positividad en el colon de conejo se asemeja a lo encontrado en la rata por Freeman **et al.** (1980) y en el ciego del ratón por Doehrn **et al.** (1992).

En los enterocitos la lectina SBA marca tanto el glicocálix como el citoplasma en la mayor parte de los casos. Además, fue frecuente el hallazgo de un patrón de marcación supranuclear con esta lectina. Este último patrón puede relacionarse, por su ubicación intracelular, con la marcación del aparato de Golgi (Ross **et al.**, 1997; De Robertis y Hib, 2004). Nuestros resultados coinciden con los de otros autores. Así, Danguy **et al.** (1988) señalan que SBA marca los enterocitos de ratón y hombre, mientras que Massone **et al.** (1991) indican la existencia de marcación en el íleon del bovino. Otros trabajos reconocen la marcación en el intestino delgado de cerdos jóvenes (Chae, 1997; Sohn y Chae, 2000; Choi **et al.**, 2003) y en el ciego de ratón (Doehrn **et al.**, 1992). En el intestino grueso del conejo se observó un patrón de marcación perinuclear, que podría coincidir con la ubicación intracelular del RE (Ross **et al.**, 1997; De Robertis y Hib, 2004). Este resultado parece demostrar la presencia de glicoconjugados ricos en galactosa o N-acetilgalactosamina, monosacáridos que se agregarían por glicosiltransferasas existentes en el RE y

en la región *cis* del aparato de Golgi (Lodish **et al.**, 2002). Probablemente los mismos sean modificados en la porción *trans* del aparato de Golgi, por lo que no se observaría marcación en el resto de la célula.

La marcación con PNA en células caliciformes es negativa en el intestino delgado, excepto en algunas células del equino. Este resultado negativo también se encontró en hombre (Coggi **et al.**, 1983; Fischer **et al.**, 1983; Vecchi **et al.**, 1987) y lo observaron Massone **et al.** (1991) en bovinos, aunque estos últimos autores demostraron que el tratamiento con neuraminidasa, que remueve ácidos siálicos, las hace positivas. En el cerdo los resultados encontrados en distintos trabajos fueron contradictorios. Los estudios de Chae (1997) y Choi **et al.** (2003) originaron resultados que concuerdan con los nuestros. En cambio, son contrarios a los comunicados por Riganti **et al.** (1997) y por Sohn y Chae (2000) en cerdos de distintas edades. En el intestino grueso no se encontró marcación ni en el equino ni en el cerdo, siendo solamente positivo el colon de conejo. Este último dato coincide con la positividad encontrada por Freeman **et al.** (1980) en el colon de rata. Estos autores señalan que las discrepancias son atribuibles a las diferencias en la sensibilidad y especificidad de las técnicas empleadas así como también en las diferencias en la preparación de los tejidos. Stoward **et al.** (1980) señalan que la lectina PNA reacciona con las células ubicadas profundamente en las criptas intestinales y que las células caliciformes situadas en forma central y superficial son negativas. En nuestro trabajo no hemos encontrado dichas diferencias regionales. Tampoco observamos la disposición supranuclear descrita en las células caliciformes del colon de rata por Freeman **et al.** (1980).

Los enterocitos se evidencian con PNA. Este dato coincide con lo descrito por otros autores en distintas especies (Fischer *et al.*, 1983; Massone *et al.*, 1991; Chae, 1997; Riganti *et al.*, 1997; Sohn y Chae, 2000; Choi *et al.* 2003). Sin embargo, Vecchi *et al.* 1987 observaron que el yeyuno del hombre es negativo frente a esta lectina. La marcación con PNA en los enterocitos de las distintas especies incluidas en nuestro estudio es mas frecuente en las células superficiales que en las criptales, tendencia que también describen Fischer *et al.* (1983) para el hombre y Doehrn *et al.* (1992) para el ratón. En cambio, Riganti *et al.* (1997) ven la marcación a nivel del glicocáliz de las criptas en el íleon del cerdo. La marcación en forma supranuclear se observó en la mayoría de los enterocitos, este dato coincide con lo descrito previamente por Fischer *et al.* (1983) Cooper *et al.* (1987) y Doehrn *et al.* (1992), y parece indicar la existencia de galactosa o gal β 3galNAc α en el aparato de Golgi.

RCA-I marca en forma heterogénea las células caliciformes, excepto en el intestino grueso de equino en que no hubo marcación alguna. Este último resultado coincide con lo descrito en la mayor parte del colon distal de rata (Freeman *et al.*, 1980) y en el yeyuno humano (Vecchi *et al.*, 1987). Sin embargo, otros autores (Fischer *et al.*, 1983) señalan que las células caliciformes del intestino delgado y grueso del hombre se evidencian con RCA-I. La marcación positiva en las células caliciformes de cerdos coincide con los datos encontrados en la bibliografía consultada (Jaeger *et al.*, 1989; Chae, 1997; Sohn y Chae, 2000; Choi *et al.*, 2003).

En los enterocitos de conejo y de equino la marcación es más intensa en el intestino delgado, mientras que en el cerdo la menor marcación es en el yeyuno. En general, en el cerdo existe una elevada positividad para RCA-I, lo que se corresponde con lo observado por otros investigadores (Jaeger **et al.**, 1989; Chae, 1997; Sohn y Chae, 2000; Choi **et al.**, 2003). También concuerdan nuestros resultados positivos con los encontrados en el hombre (Fischer **et al.**, 1983; Danguy **et al.**, 1988) y en el ratón (Gebhard y Gebert, 1999).

PNA, SBA, DBA y RCA-I forman un grupo de lectinas con afinidad por galactosa y N-acetilgalactosamina. Sin embargo, la intensidad de la unión puede variar notablemente entre ambos monosacáridos. Por ejemplo, SBA tiene una afinidad 25 a 50 veces mayor por la N-acetilgalactosamina que por la galactosa, en cambio, la lectina PNA no une a la N-acetilgalactosamina (Lis y Sharon, 1998). Además, la afinidad puede variar debido al tipo de sacárido que se encuentre lindante al monosacárido específico para la lectina (Spicer y Schulte, 1992). Estas características explican los resultados divergentes encontrados en la misma especie animal y dentro del mismo sector del intestino, para las diversas lectinas del grupo. En la marcación con estas lectinas encontramos diferencias regionales en las criptas del intestino grueso, variando la intensidad de la misma según la hilera celular considerada. Este resultado puede relacionarse con el proceso de diferenciación llevado a cabo por las células desde la base hacia la superficie de la cripta (de Santa Bárbara **et al.**, 2003) y coincide con lo observado por Madrid **et al.** (2000) en el patrón lectinhistoquímico del recto humano.

La lectina UEA-I marca intensamente en la mayoría de las células caliciformes excepto en el intestino delgado del conejo, en el colon de caballo y en recto de cerdo. Además, en el íleon de caballo la marcación desaparece en el fondo de la cripta, este resultado es idéntico al descrito en el yeyuno humano (Vecchi **et al.**, 1987), y estaría relacionado con cambios en la diferenciación celular, pero es inverso a lo descrito en colon de rata (Freeman **et al.**, 1980). Nuestros resultados en el cerdo coinciden con los descritos por Riganti **et al.** (1997) para esa especie. La ausencia de marcación en las células caliciformes del intestino delgado de conejo concuerda con lo observado en bovinos por Massone **et al.** (1991).

La lectina UEA-I marca de forma intensa a los enterocitos en recto del equino e íleon y colon del cerdo. La ausencia de marcación en otros sectores del intestino de las especies estudiadas se corresponde con lo descrito por Fischer **et al.** (1983) en el intestino humano. Los resultados en el cerdo son semejantes a los encontrados por Chae (1997), Sohn y Chae (2000), y Choi **et al.** (2003); pero difieren de los comunicados por Riganti **et al.** (1997) que no observan marcación en los enterocitos del íleon. Por otro lado, la elevada marcación coincide con lo encontrado en el bovino por Massone **et al.** (1991).

Nuestros resultados permiten establecer un patrón general de unión a lectinas en el intestino de distintas especies de mamíferos domésticos. Este patrón debe considerarse característico dentro de ciertas condiciones ya que puede variar en situaciones fisiológicas como la edad (Caldero **et al.**, 1988; Jaeger **et al.**, 1989; Gelberg **et al.**, 1992; Chae y Lee, 1995; Barbeito **et al.**, 2003) o con distintas dietas (More **et al.**, 1987; Brown **et al.**, 1991). Los cambios

en los glicocomplejos relacionados con el segmento de intestino considerado no se limitan a la composición de la mucina, sino que incluyen también modificaciones en el espesor de la capa de mucus (Szentkuti y Lorenz, 1995) y podrían relacionarse con variaciones funcionales. Estos datos fisiológicos adquieren una mayor relevancia cuando los analizamos desde el punto de vista ontológico, pues nos indican cambios significativos en los GCs del intestino a medida que el animal varía su estatus alimentario, de lactante a adulto (Bolte **et al.**, 1998; Pácha, 2000).

También debe considerarse que las diferencias intra e interespecíficas en el patrón de glicosilación de la mucosa intestinal estarían relacionadas con la fisiología de ese sector del intestino y con la interacción entre el epitelio y los microorganismos intestinales (Freitas **et al.**, 2002), y por lo tanto son, al menos parcialmente, el resultado de un proceso coevolutivo (Varki, 1993). Aún más, estas variaciones no solo son producidas por el efecto directo de los microorganismos sino también por la acción que las citoquinas secretadas por el hospedador ejercen sobre las células intestinales (Deplancke y Gaskins, 2001). Las diferencias encontradas obedecen con mayor frecuencia a modificaciones en el patrón de glicosilación de las mucinas (Jass y Walsh, 2001), aunque en menor medida pueden originarse por la expresión diferencial de los genes que codifican para la porción proteica de las mismas (Buisine **et al.**, 1998). La dieta también puede ser un factor de variación de la composición química de las mucinas intestinales, como se demostró al estudiar los cambios en las células caliciformes del intestino del cerdo alimentados por vía parenteral (Conour **et al.**, 2002).

Otro aspecto interesante de nuestros resultados es la diferencia entre el patrón de carbohidratos en los distintos tipos celulares: enterocitos y células caliciformes. Esto coincide con lo observado en otras especies (Gorelick **et al.**, 1982; Walker, 1988; Doehrn **et al.**, 1992) y se relaciona con el hecho que, si bien ambas células sintetizan mucinas, el control de la secreción es diferente en las dos poblaciones celulares (Halm y Troutman Halm, 2000).

En síntesis, nuestro estudio revela la existencia de variaciones en el patrón de carbohidratos en distintas especies, sectores intestinales, regiones del eje cripta-vellosidad y tipo celular. No se evidenció una relación directa con el tipo de dieta ya que no se estableció un patrón común para las tres especies, a pesar de las características comunes en la anatomía y la fisiología gastrointestinal (estómago monocavitario, ausencia de fermentación celulolítica pre-gástrica, gran desarrollo del ciego y colon con una importante fermentación microbiana), lo que podría explicarse por la multicausalidad en la variación de la composición de los glicocomplejos intestinales. La importancia de nuestro estudio reside en que analiza tanto distintas especies como diferentes sectores intestinales, mientras que la mayoría de la bibliografía consultada se limita a la descripción del patrón de lectinhistoquímica en una única especie y en algunos segmentos intestinales.

El establecimiento del patrón normal de lectinhistoquímica en una determinada especie, sexo y edad permite estudiar las alteraciones que se producen en los carbohidratos presentes en los glicocomplejos en distintas condiciones patológicas (Massone **et al.**, 1991; Lazaris **et al.**, 2000; Cobo **et al.**, 2004; Sant'Ana **et al.**, 2004; Dube y Bertozzi, 2005). Desde esta

perspectiva, nuestros resultados constituyen un punto de referencia que puede ser utilizado para futuros trabajos relacionados con la patología intestinal en monogástricos.

Por último, a partir de los resultados de la presente tesis y de la discusión realizada en los párrafos precedentes podemos enunciar, para individuos normales, las siguientes conclusiones:

- En distintas especies, el patrón de lectinhistoquímica es distinto, aunque destacan datos singulares como son: la marcación supranuclear con la lectina PNA, la ausencia en general de marcación de los enterocitos con UEA y de las células caliciformes con CON A. Esta variación es filogénica.
- En individuos de una misma especie, el patrón de lectinhistoquímica es distinto al considerar el eje craneo-caudal del tubo intestinal como también el eje cripta-vellosidad. Esta variación es morfológica y probablemente se relacione con las diferencias en las funciones de los distintos segmentos del intestino.
- Al comparar nuestros resultados con la bibliografía existente encontramos que, para una misma especie, el patrón de lectinhistoquímica varía con la edad. Esta variación es ontogénica.
- Las variaciones filogénicas, morfológicas y ontogénicas en la composición de los glicoconjugados sintetizados en la mucosa intestinal constituyen un aspecto más que refleja la plasticidad y la capacidad de adaptación del tubo-gastrointestinal de los mamíferos.

6

BIBLIOGRAFÍA

1) ALBERTS B.; D. BRAY; J. LEWIS; M. RAFF; K. ROBERTS y J.D. WATSON 1996 **Biología molecular de la célula**. Tercera edición. Editorial Omega. Barcelona. España.

2) AMBROSI, M.; N.R. CAMERON y B. G. DAVIS 2005 Lectins: tools for the molecular understanding of the glycode. **Org. Biomol. Chem.** **3**: 1593 - 1608.

3) AYABE, T.; T. ASHIDA; Y. KOHGO y T. KONO 2004 The role of Paneth cells and their antimicrobial peptides in innate host defense. **TRENDS in Microbiology** **12 (8)**: 394 - 398.

4) BARBEITO, C.; N. GONZÁLEZ y A. BADRÁN 2003 Sex and age related temporal variations in intestinal epithelium proliferation in the suckling mouse. **Chronobiol. Int.** **20**: 37 - 47.

5) BARBEITO, C.; A.R. MASSONE y M. A. QUIROGA 2004 Introducción a las técnicas de lectinhistoquímica. Aplicaciones en patología veterinaria. En: **Manual del curso internacional de posgrado en técnicas de inmunohistoquímica, lectinhistoquímica y microscopía electrónica**. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de La Plata. Argentina.

6) BARONDES, S.H. 1981 Lectins: their multiple endogenous cellular functions. **Am. Rev. Biochem.** **50**: 207 - 231.

7) BOLTE, G.; M. KNAUSS; I. METZDORF y M. STER 1998 Postnatal maturation of rat small intestinal brush border membranes correlates with increase in food protein binding capacity. **Dig. Dis. Sci.** **43(1)**: 148 - 155.

8) BOG – HANSEN, T. C. Editor 1980 Lectins: Biology, Biochemistry, Clinical Biochemistry. **Proceedings of the Third Lectin Meeting**. Volumen 1. Copenhagen. Dinamarca.

9) BOYD, W.C. y E. SHAPLEIGH 1954 Specific precipitating activity of plant agglutinins (lectins). **Science** **119**: 419.

10) BROWN, J. C. y R. C. HUNT 1978 Lectins. **Int. Rev. Cytol.** **52**: 277 - 349.

11) BROWN, P.J.; S.S. POULSEN y M. WELLS 1991 Serine protease immunohistochemistry and lectin histochemistry in the small intestine of weaned and unweaned pigs. **Res. Vet. Sci.** **50 (1)**: 1 - 5.

12) BUISINE, M.P.; L. DEVISME; T.C. SAVIDGE; C. GESPACH; B. GOSSELIN; N. PORCHET y J.P. AUBERTA 1998 Mucin gene expression in human embryonic and fetal intestine **Gut** **43**: 519 - 524.

13) CALDERO, J.; E. CAMPO; X. CALOMARDE y M. TORRA 1988 Distribution and changes of glycoconjugates in rat colonic mucosa during development. A histochemical study using lectins. **Histochemistry** **90 (4)**: 261 - 270.

14) CHAE, C. y Y.S. LEE 1995 Age-related lectin histochemical changes in the porcine small intestine. **J. Vet. Med. Sci.** **57 (5)**: 883 - 889.

15) CHAE, C. 1997 Lectin Histochemical Characteristics of the Epithelial Surface of Ileal Peyer`s Patches in 3-Week-Old pigs. **J. Vet. Med. Sci.** **59 (10):** 931 - 934.

16) CHOI, B-Y.; Y-S SOHN; C. CHOI y C. CHAE 2003 Lectin Histochemistry for Glycoconjugates in the Small Intestines of Piglets Naturally Infected with *Isospora suis*. **J. Vet. Med. Sci.** **65 (3):** 389 - 392.

17) CINGOLANI, H. y A. B. HOUSSAY 2000 **Fisiología Humana de Houssay**. Séptima edición. Editorial El Ateneo. Buenos Aires. Argentina.

18) COBO, E.R.; C.M. CAMPERO; E.J. GIMENO y C.G. BARBEITO 2004 Lectin Binding Patterns and Immunohistochemical Antigen Detection in the Genitalia of *Tritrichomonas foetus*-infected Heifers. **J. Comp. Path.** **131:** 127 - 134.

19) COGGI, G.; P. DELL ORTO; E. BONOLDI; P. DOI y G. VIALE. 1983 Lectins in diagnostic Pathology. In **Lectins**. Volumen III, Walter de Gruyter & Co. Berlin - New York.

20) CONOUR, J.E.; D. GANESSUNKER; K.A. TAPPENDEN; S.M. DONOVAN y H.R. GASKINS 2002 Acidomucin goblet cell expansion induced by parenteral nutrition in the small intestine of piglets. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.** **283 (5):** 1185 - 1196.

21) COOPER, H.S.; P. FARANO y R. A. COPMAN 1987 Peanut lectin binding sites in colon of patients with ulcerative colitis. **Arch. Pathol. Lab. Med.** **111:** 270 - 275.

22) CUNNINGHAM, J. G. 1997 **Textbook of Veterinary Physiology**. Segunda edición. W. B. Saunders Company. Philadelphia. USA.

23) DANGUY, A., R. KISS y J-L. PASTEELS 1988 Lectins in Histochemistry. **Biological Structures and Morphogenesis 1 (3)**: 93 - 106.

24) DANGUY, A.; C. DECAESTECKER; F. GENTEN; I. SALMON y R. KISS 1998 Applications of Lectins and Neoglycoconjugates in Histology and Pathology **Acta Anat. 161**: 206 - 218.

25) DEPLANCKE, B. y H.R. GASKINS 2001 Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer. **American Journal of Clinical Nutrition 73 (6)**: 1131 - 1141.

26) DE ROBERTIS, E. y J. HIB 2004 **Fundamentos de Biología Celular y Molecular**. Cuarta edición. Editorial El Ateneo. Buenos Aires. Argentina.

27) de SANTA BÁRBARA, P.; G.R. VAN DEN BRINK y D.J. ROBERTS 2003 Development and differentiation of the intestinal epithelium. **CMLS, Cell. Mol. Life Sci. 60**: 1 - 11.

28) DOEHRN, S.; W. REIPOHL; W. LIERSE; K. ROMARNUK y W. YOUNG 1992 Developmental Changes in the Distribution of Cecal Lectin-Binding Sites of Balb-c Mice. **Acta anat. 145**: 296 - 301.

29) DUBE, D.H. y C.R. BERTOZZI 2005 Glycans in cancer and inflammation. Potential for therapeutics and diagnostics. **Nature Reviews 4**: 477 - 488.

30) FISCHER, J.; P.J. KLEIN; M. VIERBUCHEN; R. FISCHER y G. UHLENBRUCK 1983 Histochemical and Biochemical Characterization of

Glycoprotein Components in Normal Gastric Mucosa, Intestinal Metaplasia and Gastric Cancers with Lectins. **Lectins**. Volumen III. Walter de Gruyter & Co. Berlin - New York.

31) FREITAS, M.; L-G. AXELSSON; CH. CAYUELA; T. MIDTVEDT y G. TRUGNAN 2002 Microbial-host interactions specifically control the glycosylation pattern in intestinal mouse mucosa. **Histochemistry and Cell Biology** **118 (2)**: 149 – 161.

32) FREEMAN, H.J.; F.R.C.P. REUBEN LOTAN y Y.S. KIM 1980 Application of lectins for Detection of Goblet Cell Glycoconjugate Differences in Proximal and Distal Colon of the Rat. **Laboratory Investigation** **42 (4)**: 405 - 412.

33) GABIUS, H.J. 1991 Detection and functions of mammalian lectins with emphasis on membrane lectins. **Bioch. et Biophysica Acta. Rev. on Biomembranes** **1071 (1)**: 1 - 18.

34) GARCÍA SACRISTÁN, A.; F. CASTEJÓN MONTIJANO; L.F. DE LA CRUZ PALOMINO; J. GONZÁLEZ GALLEGU; M.D. MURILLO LÓPEZ DE SILANES y G. SALIDO RUIZ 1995 **Fisiología Veterinaria**. Primera edición. McGraw-Hill – Interamericana de España. Madrid, España.

35) GEBHARD A. y A. GEBERT 1999 Brush Cells of Mouse Intestine Possess a Specialized Glycocalyx as Revealed by Quantitative Lectin Histochemistry: Further Evidence for a Sensory Function. **The J. of Histochemistry & Cytochemistry** **47 (6)**: 799 - 808.

36) GELBERG, H.; H. WHITELEY; G. BALLARD; J. SCOTT y M. KUHLENSCHMIDT 1992 Temporal lectin histochemical characterization of porcine small intestine. **Am. J. Vet. Res.** **53 (10)**: 1873 - 1880.

37) GENESER, F. 2000 Histología sobre bases biomoleculares. Tercera edición. Editorial Panamericana. Buenos Aires. Argentina.

38) GIMENO, E.J. y C. BARBEITO 2004 Glicobiología, una nueva dimensión para el estudio de la biología y la patología. **Anales de la Academia de Agronomía y Veterinaria** **58**: 1 - 34.

39) GOLDSTEIN, I.J. y C.E HAYES 1978 The lectins: carbohydrate-binding proteins of plants and animals. **Adv. Carb. Chem. Biochem.** **35**: 127 - 340.

40) GONZÁLEZ, N.; C. BARBEITO y A.F. BADRÁN 2000 Circadian rhythm in colchicine-induced apoptosis in mouse duodenal crypts. **Biocell** **24**: 289.

41) GONZÁLEZ, N.; A.F. BADRÁN y C. BARBEITO 2005 Daily variations in the duodenal crypts colchicine induced apoptosis. **Chronobiology International** **22**: 79 - 88.

42) GORELICK F.S.; M.P. SARRAS Jr. Y J.D. JAMIESON 1982 Regional differences in lectin binding to colonic epithelium by fluorescent and electron microscopy. **J. Histochem. Cytochem.** **30 (11)**: 1097 - 1108.

43) HALM D.R. y S. T. TROUTMAN HALM 2000 Secretagogue response of goblet cells and columnar cells in human colonic crypts. **Am. J. Physiol. Cell. Physiol.** **278 (1)** 212 - 233.

44) JAEGER, L. A.; C.H. LAMAR y J.J. TUREK 1989 Lectin binding to small intestinal goblet cells of newborn, suckling and weaned pigs. **Am. J. Vet. Res.** **50 (11)**: 1984 - 1987.

45) JASS J.R. y M.D. WALSH 2001 Altered mucin expression in the gastrointestinal tract: a review. **J. Cell. Mol. Med.** **5 (3)**: 327 - 351.

46) JELINEK, F. 1996 Changes of glycid composition and binding of some lectins in the caecum of rabbits with experimentally induced enterotoxaemia. **Vet. Med. (Praha)** **41 (7)**: 219 - 223.

47) KILPATRICK, D.C. 2000 **Handbook of Animal Lectins: Properties and Biomedical Applications**. Wiley, Chichester. UK.

48) KILPATRICK, D.C. 2002 Animal lectins: a historical introduction and overview. **Biochim. Biophys. Acta** **1572**: 187 - 197.

49) LAZARIS, A. CH.; E.B. CHATZIGIANNI; H. PARASKEVAKOU; S. TSELENI-BALAFOUTA y P.S. DAVARIS 2000 Lectin Histochemistry as a Predictor of Dysplasia Grade in Colorectal Adenomas. **Pathology Oncology Research** **6 (4)**: 265 - 271.

50) LEBLOND, C. 1981 The Life History of Cells in Renewing Systems. **Am. J. Anat.** **160**: 113 - 158.

51) LEEDHAM, S.J.; M. BRITTAN; S.A.C. McDONALD y N.A. WRIGHT 2005 Intestinal stem cells. **J. Cell. Mol. Med.** **9 (1)**: 11 - 24.

52) LEHRER, R.I. y T. GANZ 2002 Defensins of vertebrate animals. **Current Opinion in Immunology** **14 (1)**: 96 - 102.

53) LIS, H. y N SHARON 1998 Lectins.: Carbohydrate-specific proteins that mediate cellular recognition. **Chem. Rev.** **98**: 637 - 674.

54) LODISH, H.; A. BERK; L.S. ZIPURSKY; P. MATSUDAIRA; D. BALTIMORE y J. DARNELL 2002 **Biología celular y molecular**. Cuarta edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. Argentina.

55) MADRID, J.F.; R. APARICIO; F.J. SAEZ y F. HERNÁNDEZ 2000 Lectin cytochemical characterization of the N- and O- linked oligosaccharides in the human rectum. **Histochemical Journal** **32 (5)**: 281 - 289.

56) MARTOJA, R y M. MARTOJA 1970. **Técnicas de histología animal**. Primera edición. Editorial Toray - Masson S. A. Barcelona. España.

57) MASSONE, A.R.; S. ITAGAKI; K. KOI y E.J. GIMENO 1991 Lectin histochemical Study on Normal and Paratuberculosis - Affected Bovine Ileum. **J. Vet. Med. Sci.** **53 (4)**: 761 - 763.

58) MORE, J.; J. FIORAMONTI; F. BENALET y L. BUENO 1987 Histochemical characterization of glycoproteins present in jejunal and colonic goblet cells of pigs on different diets. A biopsy study using chemical methods and peroxidase-labelled lectins. **Histochemistry** **87 (2)**: 189 - 94.

59) OUELLETTE, A.J. 1997 Paneth cells and innate immunity in the crypt microenvironment. **Gastroenterology** **113**: 1779 - 1784.

60) PÁCHA, J. 2000 Development of Intestinal Transport Function in Mammals. **Physiological Reviews** **80 (4)**: 1633 - 1667.

61) PARODI, A. 2000 Protein glycosylation and its role in protein folding. **Annual Review of Biochemistry** **69**: 69-93.

62) PROPHET, E.B.; B. MILLS; J. ARRINGTON y L.H. SOBIN 1995 **Métodos Histotecnológicos**. Publicado por el Registro de Patología de los Estados Unidos de América. Washington. USA.

63) RIGANTI, J.G.; A.R. MASSONE; M.J. QUIROGA; A.D. ARMOCIDA y C.J. PERFUMO 1997 Lectin histochemical Binding Profile of Ileum Samples from Pigs affected with Proliferative Enteropathies. **Rev. Med. Vet. 78**: 69 - 72.

64) ROSS, M.H.; L.J. ROMRELL y G.I. KAYE 1997 **Histología: texto y atlas color**. Tercera edición. Editorial Médica Panamericana. México.

65) RUCKEBUSCH, Y.; L.P. PHANEUF y R. DUNLOP 1994 **Fisiología de grandes y pequeñas especies**. Primera edición. Editorial El Manual Moderno. México.

66) SANTANA, F.J.F.; E.F. NASCIMENTO; E.J. GIMENO y C.G. BARBEITO 2004 Cyclic Related and Pathological Changes in the Lectin-binding Sites on the Swine Oviduct. **Reprod. Dom. Anim. 39**: 1 - 6.

67) SHARON, N. y M. LIS 1972 Lectins. Cell-agglutinating and sugar specific proteins. **Science 177**: 949 - 959.

68) SOHN, Y-S y C. CHAE 2000 Lectin-binding Capacity of Glycoconjugates in Escherichia coli Infected Porcine Lower Small Intestines. **J. Vet. Med. Sci. 62 (5)**: 543 - 547.

69) SPICER, S.S. y B.A. SCHULTE 1992 Diversity of cell glycoconjugates shown histochemically: a perspective. **J. Histochem. Cytochem. 40**:1 - 38.

70) STILLMARK, H.R. 1888 **Über, ein giftiges Ferment aus den Samen von Ricinus comm. L. und einigen anderen Euphorbiaceen** M.D. Dissertation. University of Dorpat, Dorpat. Estonia.

71) STOCKERT, R.J.; A.G. MORELL y I.H. SCHEINBERG 1974 Mammalian hepatic lectin. **Science** **186**: 365–366.

72) STOWARD, P.J.; S.S. SPICER; y R.L. MILLER 1980 Histochemical reactivity of peanut lectin-horseradish peroxidase conjugate. **J. Histochem Cytochem** **28**: 979.

73) STRYER, L. 1995 **Bioquímica**. Cuarta edición. Editorial Reverté. Barcelona. España.

74) SUMNER, J.B. 1919 The globulins of the jack bean, *Canavalia ensiformis*. Preliminary paper. **J. Biol. Chem.** **37**: 137-142.

75) SUMNER, J.B. y S.F. HOWELL 1936 The identification of the hemagglutinin of the jack bean with concanavalin **J. Bacteriol.** **32**: 227-237.

76) SUMNER, J.B. 1946 The chemical nature of enzymes. **Nobel Lectures** **12**: 1-8.

77) SZENTKUTI, L. y K. LORENZ 1995 The thickness of the mucus layer in different segments of the rat intestine, **Histochemical Journal** **27 (6)**: 466 - 472.

78) TAYLOR, M.E. y K. DRICKAMER 2003 **Introduction to glycobiology**. Oxford University Press. New York. USA.

79) VARKI, A. 1993 Biological roles of oligosaccharides: All of the theories are correct. **Glycobiology** 3 (2): 97-130.

80) VARKI, A. 1999 Discovery and classification of animal lectins. En: Varki, A.; R. Cummings; J. Esker; H. Freeze; G. Hart y J. Marth, (Ed.) **Essentials of Glycobiology**. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York. USA.

81) VECCHI, M.; G. TORGANO; M. MONTI; E. BERTI; D. AGAPE; M. PRIMIGNANI; G. RONCHI y R. DE FRANCHIS 1987 Evaluation of structural and secretory glycoconjugates in normal human jejunum by means of lectin histochemistry. **Histochemistry** 86: 359 - 364.

82) WALKER, R.A. 1988 The use of lectins in histology and histopathology: a review. **Lectins. Biology, Biochemistry, Clinical Biochemistry**. Volumen 6. Sigma Chemical Company. St. Louis - Missouri. USA.

Lugar de trabajo

Laboratorio de Anatomía Animal. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Católica Argentina.

Laboratorio de la Cátedra de Patología General. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.

Laboratorio de la Cátedra de Histología y Embriología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata.

Agradecimientos

Al Dr. Eduardo J. Gimeno, por facilitar el lugar y los reactivos para el presente trabajo.

Al Dr. Enrique L. Portiansky, por la asistencia en la selección del material que ilustra esta tesis.

A la M. V. Silvia G. Márquez por la lectura crítica del manuscrito.

A la M. V. Carolina Zanuzzi y a los Histotecnólogos Rubén Mario y Rosa Villegas de Guidi por su colaboración en las tareas técnicas.



62722

