

Estudio de indicadores micromorfológicos y funcionales en abomaso

2) Resumen:

3) Introducción:

Saco alargado del tubo digestivo ubicado en su mayor parte en el piso del abdomen. Tiene una extremidad anterior ciega (fondo) a la altura de la región xifoidea relacionándose con el retículo. El cuerpo se extiende hacia atrás entre el saco ventral del rumen y el librillo y se incurva a la derecha por detrás de éste. Comunica por el cardias con el librillo. La porción terminal (pilórica) se inclina dorsalmente y se une al duodeno a nivel de la porción ventral de la 9^o a 10^o costilla.

Su cara ventral está en contacto con el piso del abdomen derecho. La cara visceral se relaciona con el librillo y el rumen. La curvatura mayor presta inserción al omento mayor y la menor se une laxamente al librillo.

Representa al nacimiento casi el 80% del volumen total entre pre estómagos y estómago glandular. El crecimiento de los pre estómagos en la etapa de pre rumiante lo relega a una relación volumétrica que solo alcanza el 7% del conjunto.

Está histológicamente formado por tres capas: mucosa, muscular y serosa.

La mucosa tiene tres secciones con diferenciaciones glandulares distintas: un primer sector muy estrecho en los rumiantes con glándulas cardiales productoras de moco; un segundo sector, amplio y extendido en los rumiantes ocupado por las glándulas fúndicas de alto significado fisiológico y un tercer sector formado por glándulas largas y tortuosas, las glándulas pilóricas que segregan abundante moco y células del sistema APUD que segregan algunas hormonas (gastrina y somatostatina).

Dado que nuestro estudio se centró en la porción fúndica, describiremos con algo más de detalle su estructura histológica.

Las glándulas desembocan en unas fosas que se encuentran en la superficie de la mucosa, se encuentran revestidas por células epiteliales en monoestrato que segregan el moco que protege la superficie interior del órgano de la secreción ácida de estas glándulas. La fosa y la parte superior del cuerpo de la glándula se unen por medio de un istmo poblado por células poco diferenciadas que constituyen el compartimento proliferativo de las glándulas. La multiplicación celular del istmo produce células que se diferencian a mucosas y migran hacia el exterior cubriendo la fosa y la superficie gástrica, estas células PAS positivas son lábiles y se descaman entre los 4 a 6 días de haber sido producidas. El istmo proliferante provee también las células del cuerpo y fondo glandular con líneas epiteliales con diversa diferenciación encontrándose las denominadas células parietales u oxífilas que producen ácido y factor intrínseco y las células principales de fuerte reacción con la eosina y fuscina ácida por su elevada población de mitocondrias y que segregan el pepsinógeno.

Una tercera población de células, no evidentes con los colorantes anilínicos lo constituyen las células endócrinas del sistema APUD. Se sostiene que también derivan de las células del istmo. En nuestro estudio las hemos puesto en evidencia mediante técnicas de impregnación argéntica.

Las glándulas descansan en una lámina propia de la mucosa de fino retículo con abundantes capilares sanguíneos y linfáticos. Una población de vigilancia inmunológica de superficie se encuentra en la lámina propia representada por linfocitos, mastocitos y algunos eosinófilos.

Una fina banda de músculo liso; la muscular de la mucosa, separa a esta de una submucosa abundante y laxa compuesta por tejido conjuntivo poco hialinizado mezclado con fibras elásticas.

La capa muscular consta de una capa externa de fibras musculares lisas longitudinales y oblicuas y de una capa interna de fibras de orientación circular.

La serosa tiene una subserosa laxa y está revestida por células mesoteliales propias del peritoneo.

El papel fisiológico del estómago en el proceso de digestión de los alimentos no es menor:

El papel principal del abomaso en el proceso de digestión es la hidrólisis de las proteínas en las uniones que tienen la presencia de aminocidos cíclicos (aromáticos) produciendo péptidos de diverso tamaño que son luego digeridos por la actividad enzimática intestinal.

La presencia de una lipasa gástrica tiene acción sobre la digestión de los triglicéridos, pero es totalmente irrelevante en importancia si la comparamos con la función proteolítica.

El pepsinógeno secretado por las células principales se activa a pepsina por autocatálisis en presencia de un pH bajo, con un rango óptimo entre 1,6 y 3,2. En la luz gástrica el medio ácido es proporcionado por las células parietales mediante la secreción de ácido clorhídrico.

Existe un complejo mecanismo neuroendocrino, endocrino y parácrino que modula la producción del jugo gástrico. Las interacciones entre las distintas partes de este sistema biológico no han sido totalmente comprendidas.

Dado el objetivo que tiene este trabajo se detallan brevemente los aspectos principales que están aceptados en la comunidad científica y que hemos tenido en cuenta para seleccionar los indicadores morfológicos y fisiológicos entre las poblaciones estudiadas.

La producción ácido - enzimática es activado por estímulos locales tales como la plétora del órgano o la presencia de proteínas en la ingesta, especialmente aquella que contiene aminoácidos como la fenilalanina y el triptofano. También actúan mecanismos neuroendocrinos y endocrinos locales utilizando como mediadores químicos a la gastrina, producida por las células del sistema APUD, la histamina aportada por los mastocitos que pueblan la lámina propia de la mucosa y la acetilcolina aportada por las neuronas posganglionares parasimpáticas del plexo submucoso o de Miessner. Hay suficientes evidencias del sinergismo entre estos tres mediadores cuando actúan simultáneamente sobre las células secretoras de la glándula fúndica.

La gastrina es reconocida como la principal hormona enterogástrica que estimula la producción de jugo estomacal. No se trata en realidad de una sola sustancia sino de un grupo de polipéptidos activos con gran macro y microheterogeneidad química.

Aparte de su actividad estimulante en la secreción gástrica se le reconocen otras acciones como las de trofismo sobre los radicales de membrana de las células del istmo proliferativo de las glándulas produciendo el disparo de ondas mitóticas que repueblan especialmente la lábil cobertura epitelial de protección con diferenciación mucosa que tapiza la superficie interna del órgano impidiendo el desencadenamiento de una autodigestión de la pared estomacal. Además interviene sobre la actividad del sistema nervioso autónomo local favoreciendo la función muscular que produce el mezclado del contenido gástrico en proceso de digestión, el cierre de las válvulas cardial y pilórica para evitar el reflujo o escape de contenido ácido; y el tránsito del contenido con descarga al duodeno en el momento adecuado. Por último y como acción endócrina a distancia estimula la secreción de insulina y glucagón por parte de los islotes pancreáticos.

La secreción de esta hormona está regulada por mecanismos que incrementa o inhiben su producción.

Los factores que favorecen su secreción pueden ser de origen luminal (presencia de péptidos o aminoácidos y la distensión del órgano por la ingesta), neurales (aumento de la descarga vagal por vía no colinérgica) y sanguínea (calcemia y tenor de adrenalina). Los factores que inhiben la secreción son de origen luminal (especialmente la acidez del contenido estomacal por debajo de 1,5), sanguíneos (descarga de hormonas intestinales y pancreáticas tales como la secretina, el péptido inhibidor gástrico, el péptido intestinal vasoactivo, la somatostatina, el glucagón y la calcitonina), y parácrinos no relacionados con el sistema vagal (la somatostatina) y relacionados con este sistema (el péptido inhibidor gástrico y la serotonina).

Finalmente consignemos que la producción de esta hormona no se limita al estómago encontrándose también en la hipófisis, cerebro, sistema nervioso periférico, duodeno y yeyuno y el páncreas.

La inactivación de la gastrina sanguínea se realiza en el riñón y de la que ingresa a la luz mezclada con la secreción en el intestino delgado.

Los mecanismos que aporta el sistema nervioso autónomo no son menos relevantes. Los plexos nerviosos miéntéricos (de Auerbach) y el submucoso (de Miessner) cuyas neuronas adrenérgicas

y colinérgicos poseen un intrincado diseño de relaciones sinápticas locales y con conexiones con el esófago y el intestino delgado.

Actualmente se lo acepta como un tercer sistema nervioso autónomo anatómica y fisiológicamente separado de los clásicos simpático y parasimpático.

Experiencias de denervación del estómago, manteniendo viable la circulación sanguínea revelan que las actividades motoras del órgano se mantienen.

Además son capaces de inducir actividad nerviosa respondiendo también a otros a mediadores distintos a la adrenalina y acetilcolina entre los que se han identificado al péptido intestinal vasoactivo, la sustancia P, la somatostatina, la serotonina, las encefalinas, la colecistocinina, el péptido liberador de gastrina, la neurotensina y la angiotensina II.

La función motriz es inducida por presorreceptores dependientes de los plexos de la pared gástrica. Las acciones sobre la secreción de jugo gástrico vía estimulación de la producción de gastrina se inicia por la entrada de información de quimiorreceptores del plexo submucoso que se encuentran en el extremo de los filetes nerviosos que atravesando el epitelio quedan libre en la luz del órgano y son estimulados por la presencia de proteínas, polipéptidos, aminoácidos y ión Ca⁺⁺ en el lumen.

4) **Materiales y método:**

El diseño del ensayo que utilizó 37 terneros en estaca de una misma guachera y origen durante los 49 días que duró la experiencia fue el siguiente:

- a) Los animales calostraron durante los cinco primeros días de vida.
- b) Al sexto día se sacrificaron tres animales identificados como “testigos lactantes”, y se dividieron los restantes en dos lotes identificados como “testigos con sustituto lácteo” (18 animales) y “terneros Ruter®” (16 animales).
- c) Los testigos con sustituto fueron alimentados con el producto comercial de ACA según sus propias instrucciones (1), y los terneros Ruter® se alimentaron siguiendo las instrucciones del fabricante (2).
- d) El muestreo se efectuó en seis períodos y el plan de necropsias programado es el que se muestra en el siguiente cuadro:

Etapa	Día de ensayo	Testigos lactantes	Testigos con sustituto lácteo	Terneros Ruter®
1º	5º	3	0	0
2º	18º	0	3	5
3º	26º	0	2	4
4º	34º	0	3	3
5º	39º	0	3	4
6º	49º	0	7	0
Animales estudiados	Total	3	18	16

- e) El abomaso se abrió por la curvatura menor y se extrajeron muestras de 4 x 4 centímetros abarcando todas sus capas en todos los animales de la parte media del órgano en el sector de la curvatura mayor que se colocaron en Formol al 10% extendidos sobre planchas de cartón corrugado y fijados en sus extremos con agujas hipodérmicas para evitar su deformación. Las muestras se entregaron al Laboratorio dentro de las 24 horas de su obtención.
- f) El proceso de laboratorio consistió en reducción de tres piezas por muestra, refijación por 24 horas en Formol al 10% y proceso conducente a la obtención de bloques incluidos en parafina. Se seleccionó un taco y se obtuvieron tres cortes de 3 micrones con 100 micrones de separación entre uno y otro, se montaron en portaobjetos silenizados dobles para someterlos a

las coloraciones de Hematoxilina de Mayer – Eosina, Tricrómico de Van Gieson e Impregnación Argéntica de Del Río Hortega con y sin reducción con Formol al 1%. Los cortes se observaron en un microscopio trinocular Olympus CX 40 y las imágenes se levantaron con la utilización una cámara digital Olympus C-3000 montada sobre sus adaptadores y se procesaron en el programa Microsoft Photo Editor archivándose bajo formato JPEG. Para efectuar las mediciones se incorporó un retículo micrométrico en uno de los oculares del microscopio.

5) **Desarrollo:**

Los indicadores seleccionados para estandarizar la información fueron seleccionados para obtener datos morfométricos de las glándulas fúndicas mediante la utilización de coloraciones de rutina y datos indirectos de actividad funcional usando una impregnación argéntica de técnica rápida con uso de microondas con y sin reducción final con Formol al 1% como revelador.

Los resultados obtenidos en cada etapa y lote de la experiencia se muestran en el siguiente cuadro:

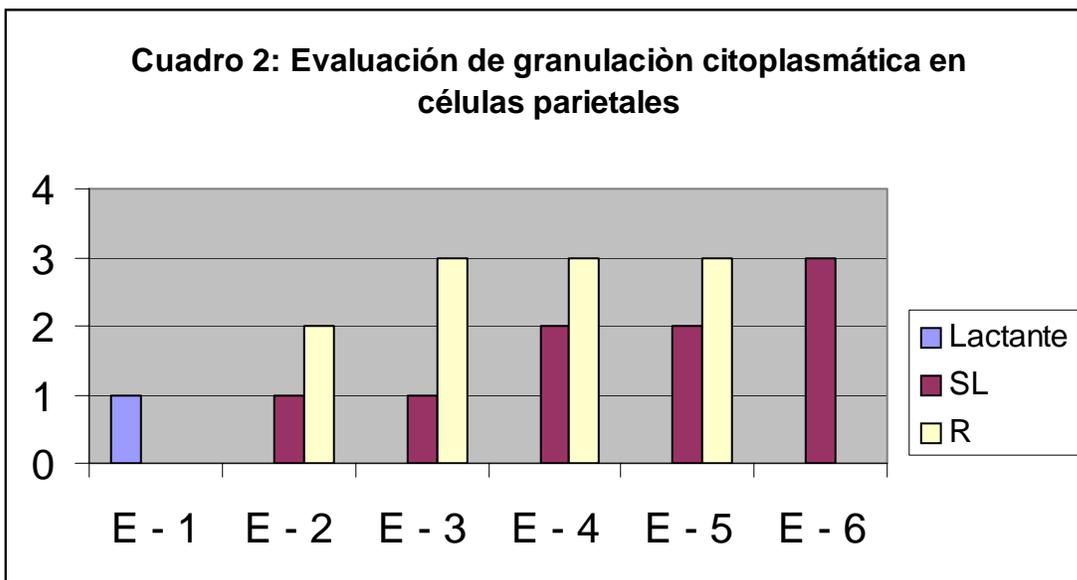
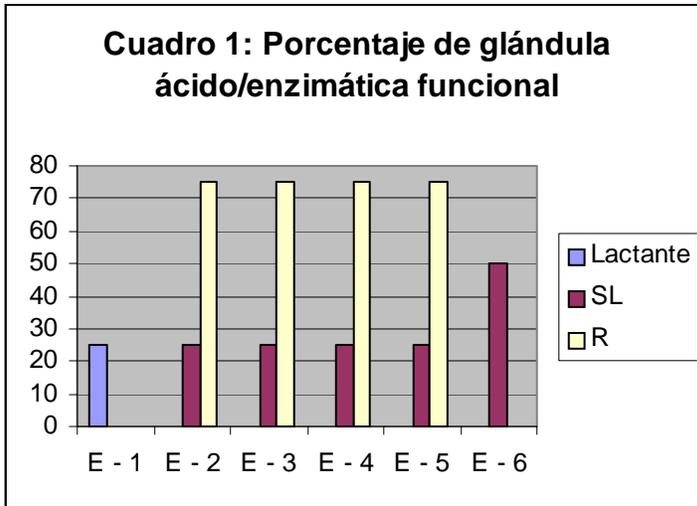
Número	Indicador	Parámetro y aumento de observación
(I)	Glándulas fúndicas: rectas / tortuosas (x)	Observación objetiva – Obj. X 10.
(II)	Actividad ácido/enzimática (x): Proporción de glándula con población secretora de jugo gástrico/ proporción de glándula con población secretora de mucus. (se dividió la glándula en cuartos)	Porcentaje de glándula ácido/enzimática presente. Obj. X 10
(III)	Número de células oxífilas por campo (x)	Recuento. Obj. X 100
(IV)	Número de mitosis por campo en el istmo (x)	Recuento. Obj. X 40
(V)	Evaluación de la granulación citoplasmática de las células parietales (xx)	Observación objetiva – Obj. X 40 1) Leve 2) Moderada 3) Marcada
(VI)	Número de células argentófilas por campo (xx)	Recuento. Obj. X 100
(VII)	Evaluación de gránulos citoplasmáticos en células argentófilas (xx)	Observación objetiva – Obj. X 100 1) Dispersos en poca cantidad en el citoplasma. 2) Concentrados en gran cantidad en el citoplasma. 3) Idem ocultando el núcleo.
(VIII)	Número de células argentafines por campo (xx)	Recuento. Obj. X 100
(IX)	Evaluación de gránulos citoplasmáticos en células argentafines (xx)	Observación objetiva – Obj. X 100 1) Dispersos en poca cantidad en el citoplasma. 2) Concentrados en gran cantidad en el citoplasma. 3) Idem ocultando el núcleo.

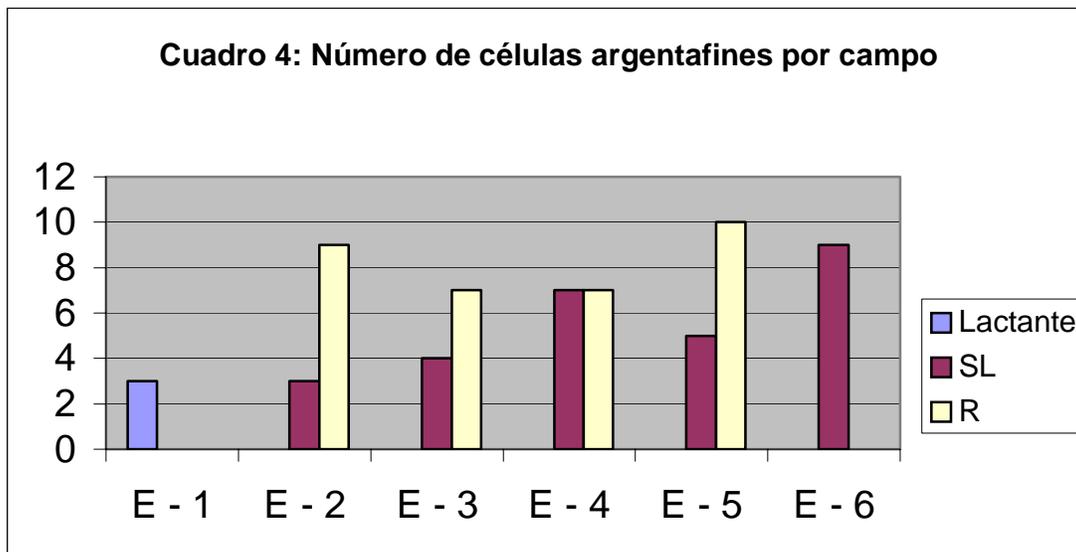
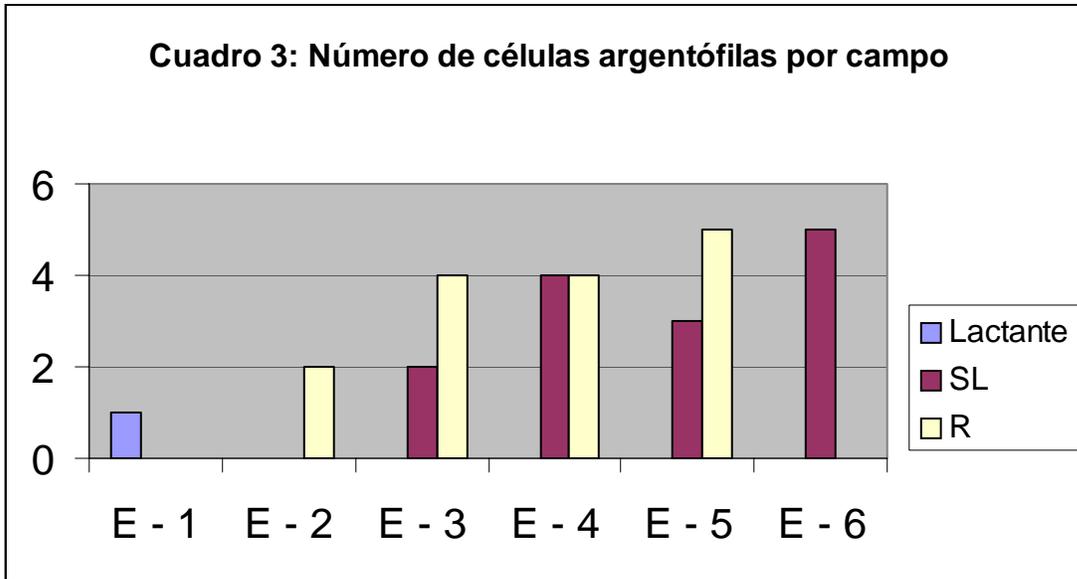
Los resultados de las observaciones estandarizadas se registran en el siguiente cuadro:

Indicador	Etapa										
	1º Lactante	2º		3º		4º		5º		6º	
		SL	R	SL	R	SL	R	SL	R	SL	R
(I)	R	R	T	R	T (1)	R	T	R	T	T (2)	
(II)	25	25 (5)	75	25	75 (3)	25	75	25	75 (4)	50 (6)	
(III)	6	11	17	7	11	9	13	9	12	10	
(IV)	3	11	2	7	3	9	2	9	3	11	
(V)	1	1	2 (7)	1 (10)	3 (8)	2	3	2	3 (9)	3 (11)	
(VI)	1	< 1	2	2	4	4	4	3	5	5	
(VII)	1	1	1	1	2 (12)	1	2	2	3	2	
(VIII)	3	3	9	4	7	7	7	5	10	9	
(IX)	2		3 (13)		3 (14)		2 (15)		3 (16)		

Notas:

- (1) Una muestra sobre cuatro: recta
- (2) Dos muestras sobre siete: rectas
- (3) Una muestra sobre cuatro: 50%
- (4) Una muestra sobre cuatro: 50%
- (5) Una muestra sobre tres: 50%
- (6) Tres muestras sobre siete: 25%
- (7) Una muestra de cinco: leve
- (8) Una muestra de cuatro: moderada
- (9) Una muestra de cuatro: moderada
- (10) Una muestra de tres: moderada
- (11) Tres muestras de siete: moderada
- (12) Una muestra de cuatro: dispersos en poca cantidad en el citoplasma
- (13) Dos muestras de cinco: concentrados en gran cantidad en el citoplasma
- (14) Una muestra de cuatro: concentrados en gran cantidad en el citoplasma
- (15) una de tres muestras: concentrados ocultando el núcleo
- (16) Una de cuatro muestras: concentrados en gran cantidad en el citoplasma





6) **Discusión y conclusiones:**

La comparación de los indicadores seleccionados muestra un mejor desempeño del órgano en los animales tratados respecto de los alimentados con sustituto lácteo.

Esta sería la conclusión más relevante a la que hemos llegado; con todo es mucho lo que aún deberemos averiguar para tener al menos algunas pistas que nos permitan explicarnos qué ajustados mecanismos bioquímicos comandan y modulan un adecuado y rápido desarrollo de la función gástrica.

La mayoría de estos indicadores son alcanzados por los terneros alimentados con sustituto los tratados a la altura de la etapa 6 es decir diez días después. Para ningún indicador se encontró que los alimentados con sustituto superaran los valores de los tratados con Ruter® en la misma etapa.

Analizando los indicadores de modo individual se pueden hacer las consideraciones:

Indicador I:

El crecimiento de la mucosa del abomaso después del parto se hace a expensas de un alargamiento de las glándulas como respuesta al estímulo digestivo. Dado que no pueden forzar a un corrimiento centrífugo a la barrera que constituye la muscular de la mucosa, el aumento de volumen de esta se realiza hacia la luz del órgano, incluso llegando a formar grandes pliegues. Con todo en nuestra experiencia histopatológica la presencia de glándulas rectas y no apretadamente tortuosas especialmente en su fondo constituye un indicador de estado de desnutrición por hipoalimentación o anorexia.

Comparando las poblaciones estudiadas en las distintas etapas hay otro hecho no consignado en la información estandarizada y que es el siguiente: fue constante la presencia en los animales alimentados con sustituto lácteo la presencia de edema e incluso infiltración inflamatoria mononuclear en la lámina propia. Este agregado intersticial separa las glándulas unas de otras haciéndolas más escasas por campo microscópico.

Este hecho revela un estado irritativo permanente sobre la mucosa que sin llegar a ser una gastritis erosiva o ulcerativa evidentemente conspira con la producción normal de jugo gástrico.

Indicador II:

El compartimento proliferativo glandular responde a diversos estímulos: la presencia de un alimento rico en proteínas y polipéptidos con alto valor energético favorece la diferenciación hacia las poblaciones con actividad enzimática exógena y hormonal endógena en la glándula.

Los procesos irritativos descaman más rápidamente las lábiles células de diferenciación mucosa haciendo que su ciclo de vida sea menor y deba el compartimento proliferativo reponer esta estirpe de cobertura protectora.

Se puede inferir que un menor estímulo alimenticio y una mayor espina irritativa concluyan en que las glándulas de los animales alimentados con sustituto lácteo tengan una proporción mayor de epitelio mucoso en el cuerpo glandular respecto al de secreciones.

Indicador III:

Con este dato se ha corroborado lo indicado en los indicadores (I) y (II), una mejor conformación glandular y sin estado irritativo aumenta la población de células productoras de ácido clorhídrico especialmente en el fondo glandular.

También no parece pertinente correlacionar este indicador con el número (V) pues parece coincidente que una población parietal mas activa marcadas por granulaciones de pepsinógeno mas densa requiera una mayor producción ácida para completar la digestión proteica.

Por último y conectando este indicador con los indicadores (VI) a (IX) una actividad hormonal mas elevada por las características del alimento genera mayor cantidad de hormonas gástricas y en especial gastrina con su efecto positivo sobre el trofismo glandular exosecretor.

Indicador IV:

En el abomaso normal del adulto es poco frecuente encontrar figuras mitóticas a la altura del istmo en los cortes histológicos. En el ternero el crecimiento son de hallazgo corriente; con todo se presentan como poco numerosas. Su presencia manifiesta la necesidad de ondas mitóticas para abastecer el crecimiento de la mucosa frente a la llegada de los alimentos.

En nuestro estudio se comprobó que los animales alimentados con sustituto lácteo muestran una actividad de multiplicación con una tasa hasta cinco veces mas elevada que en los testigos lactantes y en los tratados con Ruter®.

La explicación seguramente está en el hecho de que los primeros animales, por la exfoliación más abundante de células mucosas deben repoblar más frecuentemente la superficie interna del órgano.

Indicador V:

Si bien la ponderación del mismo ha sido hecha de modo totalmente comparativo las diferencias encontradas entre las poblaciones estudiadas son indiscutibles.

Ya habíamos evaluado esto en una primera parte del estudio mediante la utilización de las coloraciones de Hematoxilina – Eosina y el tricrómico de Van Gieson.

El someter los materiales a la técnica argentina de Del Río Hortega con reducción de la plata con formol al 1% no nos dejó motivos de dudas.

Hemos podido constatar que la densidad granular cimógena es marcadamente superior en los que recibieron Ruter® como alimento.

Indicadores VI a IX:

Hemos visto conveniente considerarlos en conjunto por su estrecha relación.

La demostración de células endócrinas capaces de reaccionar reduciendo las sales de plata fue inicialmente aplicada al estudio de la población celular de la médula adrenal.

Se pudo comprobar la existencia de dos subpoblaciones: las células argentófilas que necesitan del aporte de un reductor (formol al 1%) para que se produzca la precipitación del metal y las argentafines que en su estructura poseen un reductor citoplasmático que cumple con esta función.

La mucosa del aparato digestivo tubular desde el estómago glandular hasta el recto tiene una abundante población de células endócrinas que reaccionan del mismo modo. De allí que biológicamente se las haya agrupado a todas las que poseen ésta característica como células del sistema APUD cuya actividad es el procesar y proveer aminas activas de actividad endócrina a distancia y local.

La densidad poblacional de estas células y su importancia en el proceso de digestión y absorción de los alimentos ha llevado a que se considere la mucosa tubular digestiva como la glándula endócrina más voluminosa de la economía de los mamíferos.

Hay abundante cantidad de material bibliográfico respecto la producción hormonal a nivel del estómago y del intestino delgado; se ha identificado una treintena de sustancias con identidades químicas y propiedades biológicas comprobadas. Estas se interrelacionan e interregulan estrechamente formando un complejo sistema biológico no totalmente explicado.

Además todo este sistema endócrino mantiene relaciones bioquímicas con el sistema autónomo gastroentérico y con sus neurotransmisores influyendo en el trofismo y en la funcionalidad de los órganos encargados de la digestión.

La mas temprana, numerosa y activa presencia endócrina dadas sus funciones reconocidas no ha dado un principio de explicación de las notables diferencias morfológicas que hemos encontrado entre las poblaciones estudiadas.

Es innegable que una más eficiente digestión gástrica redunde en una mejor digestión y absorción intestinal con diferencias de crecimiento, ganancia de peso/día y aspecto del pelaje mostrado por los terneros tratados con Ruter®

Las evidencias morfológicas de las estructuras de la mucosa y la marcación no específica de una actividad hormonal potenciada en los animales tratados con Ruter® nos ha alentado a continuar con nuestra investigación para ahondar en las posibles causas y sus mecanismos.

Autores:

Dres. Alejandro Lis (Coordinador) y Fernando Barra (Prueba a campo y necropsias) – Profesionales de la Asociación de Cooperativas Argentinas – San Nicolás (Pcia. de Buenos Aires)

Ing. Ago. Félix Beltramino (Tratamiento estadístico) – Cátedra de Genética y Mejoramiento Animal – Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Litoral – Esperanza (Pcia. de santa Fe)

MV Carlos J. Peralta y Vet. Paula Rejf (Estudio histológico) – Laboratorio de Cito e Histopatología - Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Litoral – Esperanza (Pcia. de santa Fe)

Esperanza, 14 de febrero de 2003.