

ESTUDIO CITOQUIMICO DE LA ABSORCION DE MACROMOLECULAS Y DEL ESTABLECIMIENTO DE LA BARRERA INTESTINAL EN LECHONES NEONATOS.

AUTORES: ALBARRAN, R. E., ROSETE, H. N., GARCIA, E. J.

INSTITUCION: FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA,
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA. APDO POSTAL 1-406
GUADALAJARA, JAL.

INTRODUCCION

La transferencia de anticuerpos maternos a los animales noenatos ocurre en todos los mamíferos, aunque las vías de incorporación y el tiempo de transferencia de las gamaglobulinas maternas varía entre las diversas especies.

En cerdos, equinos, bovinos, cabras y ovinos recién nacidos la inmunidad pasiva se adquiere exclusivamente por la ingestión de calostro durante las primeras 12 a 36 h posnatales.

En las primeras horas después del nacimiento del cerdo se produce la incorporación epitelial no selectiva de macromoléculas tanto homólogas, heterólogas e inclusive no biológicas. Esta permeabilidad cesa a las 36 h estableciéndose en ese momento el "cierre" o "barrera intestinal".

Se han realizado diversos estudios en varias especies animales utilizando moléculas marcadoras como la peroxidasa, y se han podido identificar factores que intervienen en la regulación del fenómeno de absorción, entre los más importantes están: la edad del animal, temperatura ambiental, factores del calostro y momento de la ingestión del calostro, sin que hasta el momento existan evidencias suficientes sobre este último factor.

OBJETIVOS

Analizar la influencia del tiempo posnatal en que se ingiere calostro materno sobre la absorción de peroxidasa y para el establecimiento de la barrera intestinal en lechones

Comparar las diferencias de incorporación no selectiva de peroxidasa en las tres regiones del intestino delgado.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron 15 lechones híbridos Duroc-Yorshire de ambos sexos procedentes de la Posta Zootécnica Cofradía, FMVZ U de G. Con estos se formaron 5 grupos de 3 animales; con edades de 1, 4, 6 días alimentados normalmente, lechones de 4 días deprivados de calostro y de 4 días posnatales sacrificados 24 h después de la primera ingestión del calostro.

Los animales fueron pesados y se anestesiaron con estresnil e hipnodil, se colocaron en posición decúbito dorsal, se inmovilizaron para realizar una laparotomía media abdominal y exteriorizar el intestino para formar dos asas en duodeno, yeyuno e ileon. En el asa distal de cada región se inyectó 1 ml de solución salina con 10mg de peroxidasa y en la segunda asa solo solución salina, inmediatamente se

regresó el intestino a la cavidad abdominal, después de 35 a 45 minutos, se disectaron las asas y fragmentos representativos se fijaron en solución de Karnovsky.

Posteriormente se formaron tres grupos de reacción citoquímica por asa intestinal; el primer grupo se depositó en el medio de preincubación de Karnovsky (5 mg diaminobencidina, 10 ml de amortiguador Tris-HCl) en el que se agitaron suavemente para adicionar 0.1 ml de peróxido de hidrógeno; al segundo grupo de reacción, al medio de preincubación se adicionó 0.1 ml de inhibidor 3'3 amino triazole; finalmente para el tercer grupo los tejidos solamente se conservaron en el medio de preincubación. La reacción continuó durante 30-45 minutos.

Los tejidos se procesaron para cortes en fresco, parafina y resinas. Los cortes se tilaron suavemente con azul de toluidina para el análisis descriptivo estructural al microscopio de luz.

En dicho estudio se identificó la localización e intensidad de peroxidasa, además se cuantificó el número de vellosidades por milímetro lineal y el porcentaje de estas que tuvieron producto de reacción.

RESULTADOS Y DISCUSION

En lechones de 12 a 24 h de edad se encontró reacción positiva en las tres regiones del intestino delgado, dicha marca se observó como un puntillero café oscuro en la región citoplasmica apical de las células epiteliales. El 82 a 100% de las vellosidades revelaron marca en la región media y apical, el epitelio se caracterizó además por la presencia de vacuolas esféricas intracitoplasmáticas (1 a 15 μ m de diámetro) con diferente afinidad tintorial.

Para los lechones de 4 días no se observó reacción positiva en duodeno, en las regiones restantes, fué escasa y restringida a la parte apical de las vellosidades, el porcentaje de estas con marca varió de un 6.78 a 12.23.

En animales que fueron retirados de la madre desde el nacimiento y que no recibieron calostro en ningún momento, se apreció una clara capacidad epitelial para internalizar peroxidasa en las tres regiones del intestino delgado. Se cuantificó desde un 28 a un 85% de vellosidades con marca. Observándose además vacuolas epiteliales sin afinidad tintorial y de mayor tamaño (7-20 μ m de diámetro).

Los hallazgos más interesantes se encontraron en aquellos lechones que recibieron el calostro en forma desfasada, se observó que la capacidad de internalizar macromoléculas, como la peroxidasa, fué mayor en las tres regiones del intestino. Además el epitelio se caracterizó por la presencia de vacuolas de gran tamaño y medianas con afinidad tintorial (Cuadro 1).

Por último en los lechones de 6 días de vida solo se apreciaron escasas células positivas y un epitelio semejante al del cerdo adulto.

Las vacuolas mayores indican probablemente acumulación intracelular del material incorporado, las de menor tamaño sugieren la absorción masiva de componentes del calostro (proteínas y lípidos).

La ausencia de calostro prolongó la capacidad de absorción del intestino delgado del neonato, la ingestión retardada del mismo a parte de lo anterior además estimuló la endocitosis. El modelo utilizado permite demostrar los efectos específicos de la ingestión retardada del calostro o su ausencia en la capacidad de absorción intestinal de macromoléculas.

CUADRO 1. UBICACION Y PORCENTAJE DE PEROXIDASA EXOGENA EN VELLOSIDADES/mm DEL INTESTINO DELGADO (espacio intracelular de la estirpe absorptiva epitelial).

REGION	DUODENO	YEVUNO	ILEON
GRUPO			
No. vell./mm	11.26	10.20	9.33
AD SIN CALOSTRO			
7	0.00 -	0.00 -	0.00 -
8	28.79 1/3 sup	67.30 1/3 sup	60.00 1/3 sup
9	85.41 2/3 sup	80.77 1/3 sup	78.72 1/3 sup
No. vell./mm	10.80	10.00	11.06
CALOSTRO AL 3 D			
10	70.37 2/3 sup	86.00 2/3 sup	76.27 2/3 sup
11	0.00 -	0.00 -	50.00 1/3 sup
12	40.00 1/3 sup	65.38 2/3 sup	66.04 1/3 sup

(%) de vellosidades con peroxidasa/mm lineal
1/2, 2/3 sup) tercio superior, tercio medio y superior de vellosidades, respectivamente.

REFERENCIAS

- Blecha, F., Kelley, W.K. 1981. Cold stress reduces the acquisition of colostral immunoglobulin in piglets. *J Anim Sci* 52:594-9.
- Bridger, C.J., Brown, F.J. 1981. Development of immunity to porcine rotavirus in piglets protected from disease by bovine colostrum. *Infect Immun* 31:906-10.
- Ingelfinger, F.J. 1990. Absorción intestinal II. *Cerdos/Swine* 1(3):26-9.
- Keljo, J.D., Butler, G.D., Hamilton, R.J. 1985. Altered jejunal permeability to macromolecules during viral enteritis in piglet. *Gastroenterology* 88:998-1004.
- Michanek, P. 1989. Intestinal transmission of macromolecules in newborn dairy calves of different ages at first feeding. *Res Vet Sci* 46:375-9.
- Olson, D.P., Bull, R.C., Woodard, L.F., Kelley, K.W. 1981. Effects of maternal nutritional restriction and cold stress on young calves; absorption of colostral immunoglobulins. *Am J Vet Res* 42:476-80.
- Vellenga, L., Wesing, Th., Brevink, J.H. 1988. Effect of feeding 5 per cent glucose solution or milk replacer to newborn piglets on intestinal permeability to macromolecules. *Vet Record* 123:395-7.
- Westrom, R.B., Svendsen, J., Ohlsson, G.B., Tagesson, C., Karlsson, B.W. 1984. Intestinal transmission of macromolecules in the neonatal pig. Influence of age of piglet and molecular weight of markers. *Biol Neonate* 46:20-5.