

CÉLULAS ENTEROENDÓCRINAS EN CIEGO Y APÉNDICE DE CONEJO

**Norberto Bassan¹, Fernando Pérez¹, Miguel Vinuesa¹,
Stella Roma¹, Mónica Fodor¹, Adolfo Araujo²**

¹Cátedra de Histología y Embriología. Facultad Ciencias Médicas.

²Cátedra de Histología y Embriología. Facultad Ciencias Veterinarias.
Universidad Nacional de Rosario. Argentina.

Resumen: Las células enteroendócrinas (CEE) del intestino son células relacionadas con la motilidad, secreción y absorción de nutrientes. Su rol relacionado a la función inmunológica está siendo estudiado recientemente. El ciego es el órgano fundamental de la cecotrofia. Constituye una cuba de fermentación equivalente al rumen de los poligástricos. El apéndice es continuación del ciego y es un órgano linfático de gran importancia en el conejo. La presencia en ambos de bacterias y nutrientes en distintas etapas de digestión implica la potencial acción antigénica de las mismas, por lo que ambos órganos resultan un modelo de interés para el análisis de la reacción local de hipersensibilidad. La necesidad de contar con valores de normalidad y las pocas referencias bibliográficas sobre estas células en ciego y apéndice de conejos normales, nos llevó a estudiar la localización, cuantificación y distribución de las mismas en estos órganos. Muestras de ciego y apéndice de 10 conejos neozelandeses adultos en condiciones standard de criadero, fijadas en formol buffer al 10%, incluidas en parafina, se marcaron con anticuerpo monoclonal anti-Cromogranina A. En cada órgano se contaron 400 campos refiriéndose las células enteroendócrinas en relación a 100 enterocitos. En ciego, se consideró epitelio superficial y cripta. En apéndice, epitelio superficial, cripta superficial y cripta profunda. En ciego, el epitelio superficial mostró 1.6 CEE / 100 enterocitos, mientras que las criptas 3.0 CEE/100 enterocitos. En apéndice, el epitelio superficial presentó 5.2 enteroendócrinas/100 enterocitos, en criptas superficiales 8.5 CEE / 100 y en las profundas 4.9 CEE/100. Los resultados nos permiten establecer que la cantidad de células enteroendócrinas es mayor en apéndice que en ciego y que se distribuyen en forma desigual en epitelio superficial y en criptas. Las diferencias cuantitativas entre los órganos y su distribución avalan una relación histofisiológica de estas células con el tejido linfático de la barrera mucosa intestinal.

PALABRAS CLAVES: Conejo - Ciego - Apéndice - Células Enteroendócrinas

ENTEROENDOCRINE CELLS IN CECUM AND APPENDIX FROM RABBIT

Abstract: Gut intraepithelial enteroendocrine cells (EEC) are related to motility, secretion and absorption of nutrients. Recently, their role in the immune response is being studied. Cecotrophy is a particular mechanism of rabbit digestive physiology which allows the entire antigenic molecules to get in close contact with cecal mucosal barrier. Appendix constitutes an important lymphatic organ in rabbit. Cecum and appendix present many bacteria and nutrients in different grades of digestion being potential antigens. The lack of references about EEC in rabbit lead us to study the localization and to quantify their distribution in both organs. Samples from cecum and appendix from 10 adults neuzeland rabbits were fixed in 10% buffered formaldehyde, embedded in paraffin and stained with Chromogranin A for neuroendocrine cells. Enteroendocrine cells in 400 High power field were counted in each organ, referred as enteroendocrine cells per 100 enterocytes. In cecum surface epithelium and crypt were considered, meanwhile in appendix, surface epithelium, superficial and deep crypts. In cecum surface epithelium showed 1.6 enteroendocrine cells per 100 enterocytes while in crypts 3.0/100. In appendix surface epithelium presented 5.2 enteroendocrine cells per 100 enterocytes, in superficial crypts 8.5/100 and in deep crypts 4.9/100. Results allow us to conclude that enteroendocrine cells in appendix are more frequent than in cecum and they also have a different distribution in superficial epithelium and crypts. The differences in the number and distribution in both organs may indicate a histophysiological relation between these cells and the lymphatic tissue from the intestinal mucosal barrier

KEY WORDS: Rabbit - Cecum - Appendix - Enteroendocrine cells

Fecha de recepción: 17/03/00

Fecha de aprobación: 18/05/00

Dirección para correspondencia:

Dr. Norberto Bassan. Muniagurria 534 (S2000) Rosario. Santa Fe. Argentina. Fax: 0341-4804569

E-mail: ferperezgurd@topmail.com.ar

INTRODUCCIÓN

El sistema endócrino gastrointestinal, está constituido por un amplio conjunto de células que se encuentran dispersas entre las otras células epiteliales. Se ha constatado además, que no sólo se hallan a nivel epitelial sino que en algunos sectores, como apéndice e intestino delgado, pueden localizarse en el corion e incluso en la submucosa. Estas células producen una importante cantidad de hormonas con acción endócrina y parácrina (1).

Las mismas por pertenecer al sistema APUD, comparten como características fundamentales la capacidad de captar precursores amínicos, tomando principalmente los L-isómeros de la DOPA (dihidroxifenilalanina) y el 5-HT (5-hidroxitriptofano), decarboxilándolos y produciendo compuestos polipeptídicos de bajo peso molecular (2).

Desde el punto de vista histológico, estas células aparecen con citoplasma claro, dado que no hay suficiente RNA para revelar basofilia ni membranas que le confieran acidofilia. Contienen gránulos secretorios que exhiben metacromasia enmascarada, reaccionan con la hematoxilina plúmbica, las sales de cromo y las de plata (3, 4).

La inmunohistoquímica, utilizando anticuerpos monoclonales marcadores generales endócrinos, tales como Sinaptofisina, Cromogranina y Enolasa Neuronal Específica, permite identificarlas (5, 6).

A la microscopía electrónica, la mayoría evidencia una forma de botellón con microvellosidades en el extremo apical y gránulos secretorios en su base. Otras son más pequeñas, piramidales, se apoyan sobre la membrana basal y no llegan hasta la luz del órgano.

La asociación anatómica y funcional entre las células enteroendócrinas y los nervios autónomos indica la amplia relación de estas células con el sistema nervioso (7).

Recientemente se ha comprobado que neuropéptidos como la Sustancia P, encontrados en células enteroendócrinas, colaboran en la regulación de la respuesta inmune a nivel intestinal, aumentando la permeabilidad de los enterocitos y actuando a nivel de receptores ubicados en linfocitos T y macrófagos (8, 9 y 10).

El ciego es el órgano fundamental de la cecotrofia en el conejo, comportándose como una cuba de fermentación similar al rumen de los poligástricos. En él, los alimentos permanecen hasta doce horas provocando que bacterias y nutrientes, en distintas etapas de digestión y con variada potencialidad antigénica, contacten con la mucosa cecal un tiempo prolongado.

El apéndice de conejo es el mayor órgano linfoide y constituye la mitad del sistema inmune

asociado a la mucosa intestinal. Contiene folículos linfáticos que se relacionan estrechamente con las células M situadas a nivel del domo.

Un importante número de trabajos hacen mención de las células enteroendócrinas en diversas especies y principalmente en humanos, pero es escasa la información referida al tracto gastrointestinal de conejos.

El objetivo del presente trabajo es realizar una descripción de la localización, distribución y cuantificación de las células enteroendócrinas en ciego y apéndice, órganos centrales en la fisiología digestiva del conejo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras de ciego y apéndice de 10 conejos neozelandeses adultos, en condiciones normales de bioterio fueron fijadas en formol buffer al 10% e incluidas en parafina.

Las muestras se marcaron con anticuerpo monoclonal anti-cromogranina A (Chromogranin A -Novocastra), utilizándose DAB como revelador y hematoxilina como contraste nuclear.

De cada órgano se contaron 400 campos a 400 aumentos, refiriéndose las células enteroendócrinas en relación a 100 enterocitos.

En ciego, se consideró epitelio superficial y cripta. En apéndice, epitelio superficial, cripta superficial y cripta profunda.

RESULTADOS

Los resultados muestran mayor cantidad de células enteroendócrinas en apéndice que en ciego.

En el ciego, la cantidad de células enteroendócrinas de las criptas duplica a la del epitelio superficial (Tabla N° 1 y Foto I).

En apéndice, su número es más elevado en el epitelio de la zona superficial de la cripta en relación a la zona profunda y al epitelio superficial (Tabla N° 2 y Fotos II y III).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

En ciego, hallamos pocas células enteroendócrinas, así como también escaso tejido linfoide.

En apéndice cecal, detectamos múltiples células enteroendócrinas y abundancia de tejido linfático. Esta correlación entre cantidad de células enteroendócrinas y tejido linfático sería indicativa de la participación de dichas células en el sistema inmune.

Se concluye que las células enteroendócrinas presentan valores más importantes en apéndice que en ciego y que éstas se distribuyen en forma desigual en epitelio superficial y en criptas.

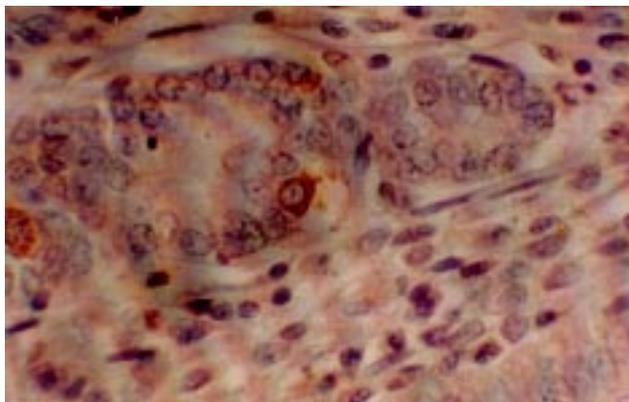


Foto I: Células enteroendócrinas Cromogranina A + en cripta de ciego de conejo. 400 x.

Photo I: Enteroendocrine cells. Chromogranin A+ cells in cecal crypts from rabbit. 400 x

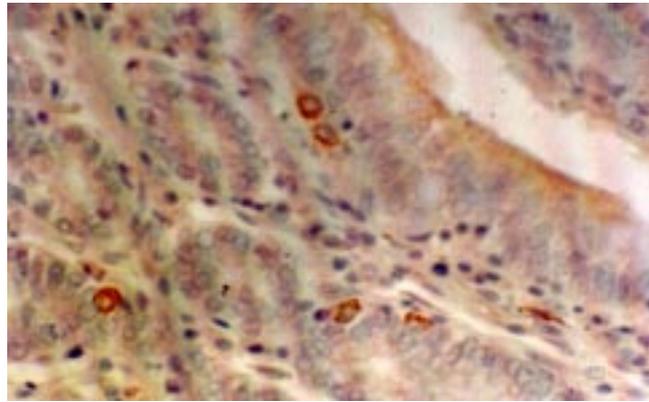


Foto II: Células enteroendócrinas Cromogranina A + en epitelio superficial y criptal de apéndice de conejo. 400 x.

Photo II: Enteroendocrine cells. Chromogranin A+ cells in surface epithelium and crypts from appendix. 400x

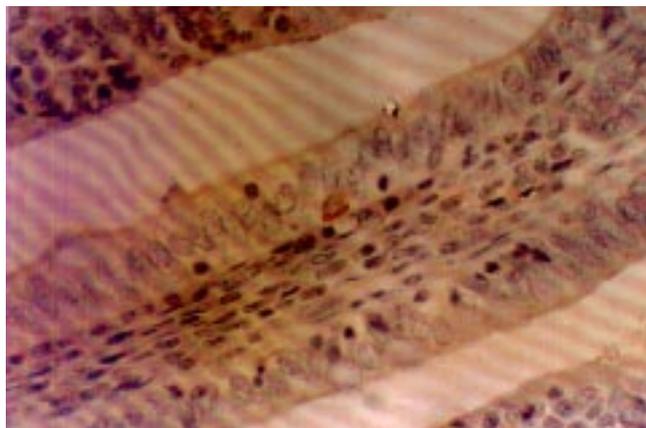


Foto III. Células enteroendócrinas Cromogranina A + en cripta profunda de apéndice de conejo. 400 x.

Photo III: Enteroendocrine cells. Chromogranin A+ cells in deep crypts from appendix. 400x

Tabla N° 1. Células enteroendócrinas en ciego de conejo. Células Cromogranina A + por 100 enterocitos

Table N° 1. Enteroendocrine cells in cecum from rabbit. Chromogranin A + cells per 100 enterocytes

Epitelio Superficial	1,6
Epitelio Criptal	3,0

Tabla N° 2. Células enteroendócrinas en apéndice de conejo. Células Cromogranina A + por 100 enterocitos

Table N° 2. Enteroendocrine cells in appendix from rabbit. Chromogranin A + cells per 100 enterocytes

Epitelio Superficial	5,2
Cripta Superficial	8,5
Cripta Profunda	4,9

Las diferencias cuantitativas entre los órganos y su distribución avalan una relación histofisiológica entre estas células y el tejido linfático de la barrera mucosa intestinal.

BIBLIOGRAFÍA

1. Falkmer S, Wilander E. The endocrine cell population. Whitehead Gastrointestinal Pathology. Ed. Churchill Livingstone. London (United Kingdom), 1989; p. 57-64.
2. Pearse A. The cytochemistry and ultrastructure of polypeptide hormone-producing cells of the APUD series and the embryologic, physiologic and pathologic implications of the concept. J Histochem Cytochem 1969; 17:303-313.

3. Grimelius L, Wilander E. Silver stains in the study of endocrine cells of gut and pancreas. Invest Cell Pathol 1980; 3:3-12.
4. Polak J, Bloom S. Neuroendocrine system of the gut. Oxford Textbook of Pathology. Ed. Oxford University Press. Oxford (United Kingdom), 1992; p. 1182-1187.
5. Titlbach M, Falt K, Falkmer S. Post natal maturation of the islets of Langerhans in sheep. Light microscopic, immunohistochemical, morphometric and ultrastructural investigations with particular reference to the transient appearance of argyrophil insulin immune reactive cells. Diab Res 1985; 2:5-15.
6. Titlbach M, Falt K, Falkmer S. Ontogeny of the pancreatic islet parenchymal in cells in rabbits. An immunohistochemical and ultrastructural study with particular regard to the earliest appearance of argyrophil insulin-immunoreactive cells. Diab Res 1987; 5: 105-117.

7. Furness J, Costa M. Types of nerves in enteric nervous system. *Neuroscience* 1980; 5:1- 20
8. Felten D, Felten S, Bellinger D, Carlson S, Ackerman K, Madden K, Olschowki J, Livnat S. Noradrenergic sympathetic neural interactions with the immune system: structure and function. *Immunol Rev* 1987; 100:225-260.
9. Stead R, Bienenstock J, Stanisiz A. Neuropeptide regulation of mucosal immunity. *Immunol Rev* 1987; 100:333-359.
10. Pascual D, Mc Ghee J, Kiyono H, Bost K. 1991. Neuroimmune modulation of lymphocyte function: Substance P enhances immunoglobulin synthesis in LPS activated murine splenic B cells. *Int immunol* 1991; 3:1223-1229.