

# DESARROLLO DE LA MUCOSA GÁSTRICA EMBRIONARIA Y NEONATAL EN RATÓN (*MUS MUSCULUS*)

## DEVELOPMENT OF GASTRIC MUCOSA IN EMBRYONIC AND NEONATAL MOUSE (*MUS MUSCULUS*)

LILIANA SALAZAR M., MSc.<sup>1</sup>

### RESUMEN

El cáncer gástrico presenta una alta prevalencia a nivel mundial. La utilización de los biomodelos murinos resultan muy útiles para el conocimiento de la mucosa, sitio de origen de la mayoría de los carcinomas. **Objetivo:** Caracterización histológica de la mucosa gástrica del cuerpo del ratón *Mus musculus* en estadios embrionarios y neonatales. **Metodología:** se utilizaron 29 biomodelos, 23 hembras, seis machos en edad reproductiva, peso de 20 - 30 gramos. Posterior al esquema de apareamiento, se obtuvo un total de 273 especímenes de E15 a E18.5, P1 a P7; y P15 a P24. Se extrajo el bloque esófago-estómago, el cual posterior a su fijación, se incluyó en parafina, cortó y coloreó con Hematoxilina-eosina, Alcian Blue pH 2.5 y Ácido periódico de Schiff. **Resultados:** Desde E15 se observa fondo y cuerpo; cambio epitelial, de plano estratificado queratinizado a cilíndrico simple PAS + con cortas e incipientes foveolas primitivas, escasos brotes glandulares entre una delgada lámina propia. Se presenta modificación de morfología epitelial, con intensa acidofilia apical y vacuolas en citoplasma apical. Desde P1 se diferencia organización glandular típica. La reacción PAS + permaneció estable durante todos los estadios, encontrándose tanto en foseta como en istmo. En P18 Se observan células semejantes a caliciformes (PAS +) en el límite entre fondo y cuerpo; se conservan hasta P19. Desde P21 se pueden identificar células parietales y zimogénicas. La cantidad de células PAS positivas disminuye. **Conclusión:** El epitelio de la superficie del estómago de ratón se compone de una variedad de células, algunas de las cuales son de absorción, una línea celular que se sustituye por células secretoras mucosas cuando las glándulas maduran. A lo largo del desarrollo de la mucosa del cuerpo gástrico, el proceso de diferenciación epitelial está vinculada a la producción de mucina.

**Palabras claves:** Estómago, Diferenciación, Desarrollo morfológico de estómago

<sup>1</sup>Magister en Morfología. Facultad de Salud. Departamento de morfología Universidad del Valle. Cali, Colombia. liliana.salazar@correounivalle.edu.co

Recibido: octubre 1, 2014  
Aprobado: enero 15, 2015

### SUMMARY

Gastric cancer has a high prevalence worldwide. Due to its multifactorial etiology, extensive and detailed studies are required, in which murine models are key for understanding the mucosa, site of most of the carcinomas. **Objective:** To characterize the histology of the gastric body mucosa of the mouse *Mus musculus* in embryonic and neonatal stages. **Methodology:** 29 murine models were employed; 23 females and six males in reproductive age, weighing between 20 and 30 grams. After mating, a total of 273 specimens were obtained from gestational ages 15-18.5 days, and postnatal ages 1-7 days and 15-24 days. The esophagus and stomach were dissected, fixed, embedded in paraffin, sectioned, and stained with hematoxylin and eosin, Alcian Blue pH 2.5, and Periodic Acid-Schiff (PAS). **Results:** At gestational age 15 days, the body and fundus of the stomach can be discerned. A change in the epithelium, from keratinized stratified squamous to PAS-positive simple columnar, with short primitive foveolae and few glandular buds within a thin lamina propria, is appreciated. There is intense acidophilic staining and vacuoles in the apical cytoplasm. At postnatal age 1 day, a typical glandular organization is observed. The PAS reaction remained stable during all stages, both in the gastric pits and in the isthmus. From postnatal age 18 days to 19 days, goblet-like cells (PAS-positive) are seen in the limit between fundus and body. At postnatal age 21 days, parietal and zymogenic cells can be identified, and the amount of PAS-positive cells decreases. **Conclusion:** The surface epithelium of the mouse stomach is made up of a variety of cells, some of which are absorptive, a cell line that is replaced by mucous secretory cells when the glands mature. Throughout the development of the gastric body mucosa, the process of epithelial differentiation is linked to mucin production.

**Key Words:** Stomach, Differentiation, Morphological development of stomach

### INTRODUCCIÓN

La patología gástrica, particularmente la asociada a lesiones pre-neoplásicas y cáncer presenta alta prevalencia a nivel mundial, siendo la primera causa de

muerte por tumores malignos en ambos sexos, en todo el mundo<sup>1</sup>. En Colombia, durante el periodo 2000-2006 hubo 203.907 muertes por cáncer; ocupando en hombre el cáncer de estómago el primer lugar y en mujeres, el segundo lugar, lo que representa el 15% de todas las muertes por cáncer en el país, al afectar tanto a hombres como mujeres, con una razón de masculinidad de 1,5<sup>2</sup>. Son patologías multifactoriales que requieren amplios y profundos estudios, donde la utilización de los biomodelos murinos resultan muy útiles como reactivo biológico; de ahí la importancia de conocer en profundidad las características histológicas de la mucosa gástrica del ratón *Mus musculus*, especie cuyas características genéticas, de tamaño, facilidad de manejo y su corto periodo de gestación, lo hacen un modelo excelente para estudios histoquímicos, inmunohistoquímicos y genéticos.

El objetivo principal del presente estudio es la caracterización histológica de la mucosa gástrica del cuerpo del ratón *Mus musculus* en estadios embrionarios y neonatales.

## ESTRUCTURA DEL ESTÓMAGO

La morfología del estómago difiere entre las especies conservando unas similitudes estructurales básicas. Algunas especies no poseen estómago glandular y su mucosa esofágica se continúa con la mucosa del intestino delgado. La pared del estómago humano, presenta en su constitución cuatro capas: Mucosa, submucosa, muscular externa y serosa. Basados en las características histológicas de las glándulas de la mucosa gástrica se reconocen tres regiones: mucosa cardial, con glándulas cardiales; mucosa del corpo-fúndica, con glándulas corpo-fúndicas; y mucosa pilórica, con glándulas pilóricas<sup>3</sup>.

Las glándulas cardiales, son de trayecto ligeramente tortuoso, están tapizadas por epitelio cilíndrico simple con abundantes células secretoras de moco, algunas células enteroendocrinas y células madre. Son morfológicamente similares a las glándulas cardiales de la porción terminal del esófago.

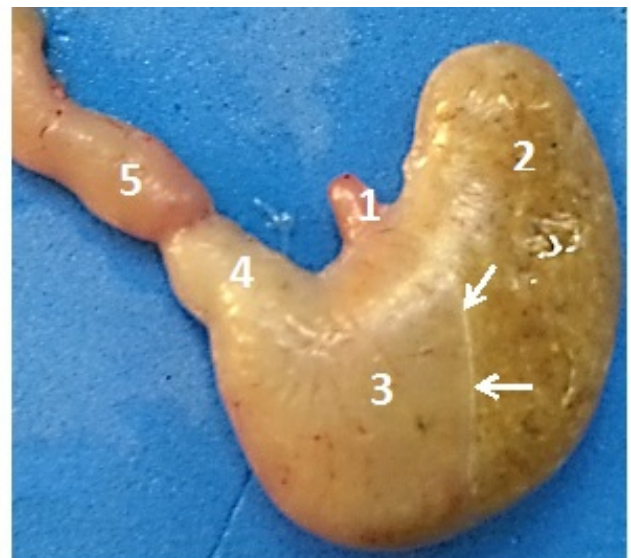
La mucosa del cuerpo y del fundus se caracteriza por presentar una lámina propia completamente ocupada por glándulas tubulares simples ramificadas, las cuales se caracterizan por ser ampliamente ramificadas, tortuosas y dispuestas en espiral. Presentan un gran desarrollo de cuello y la base, con unas pequeñas fosetas

hacia el epitelio de revestimiento. En cada foseta desembocan varias glándulas. Cada glándula presenta tres regiones (istmo, cuello, base); el istmo, es el sitio de la replicación celular, las células al diferenciarse en mucosas superficiales, pueden migrar en dos direcciones: Hacia el epitelio superficial o hacia el fondo para mantener la población celular del epitelio de la glándula fúndica<sup>4</sup>.

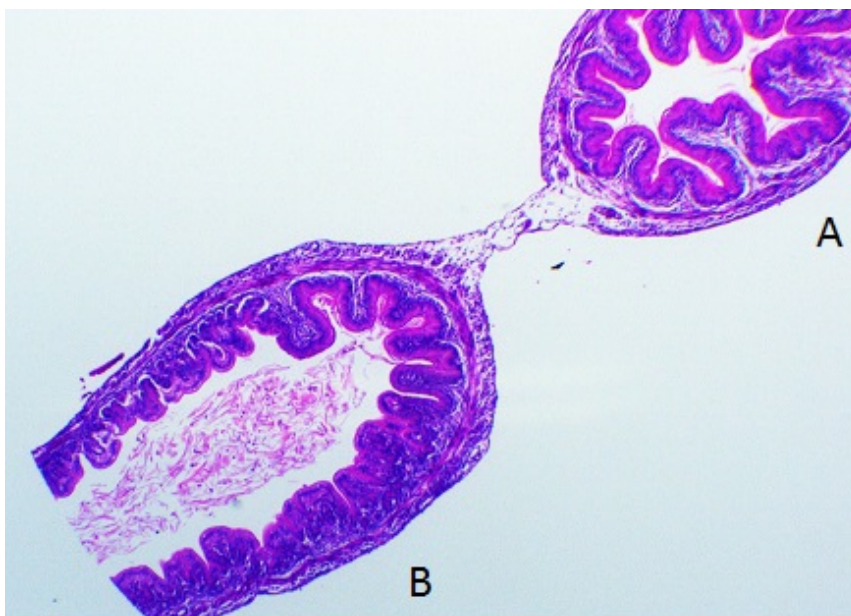
Las glándulas fúndicas producen jugo gástrico, alrededor de 2 litros por día. En la región del cuello glandular, se encuentran diversos tipos de células: mucosas del cuello, madre, parietales u oxínticas. En la región de la base glandular se hallan células parietales, células principales y células enteroendocrinas<sup>5</sup>.

## Características histológicas gástricas del ratón

Ghoshal y colaboradores en 1989 describieron el estómago del ratón *Mus musculus* en dos partes bien diferenciadas: La porción izquierda, no glandular, denominada proventrículo o panza; y la porción derecha glandular, denominada ventrículo, la cual presenta paredes gruesas en el ratón adulto<sup>5</sup> (Fig. 1.) posteriormente la nomenclatura se unificó determinando al proventrículo como fondo del estómago y el ventrículo como cuerpo<sup>6</sup>.



**Figura 1.** 1. Esófago, 2. Porción no glandular (Fondo gástrico), 3. Porción glandular (Cuerpo), 4. Antro pilórico, 5. Duodeno. Nótese la línea divisoria entre ambas porciones (Flechas blancas)



**Figura 2** Demarcado con **A**, se observa la región del fondo gástrico, tapizada con epitelio estratificado plano queratinizado. Demarcado con **B**, la región glandular, cuerpo gástrico, tapizada por epitelio cilíndrico simple. H.E. 4X

La mucosa del cuerpo (Figura 2B) se encuentra constituida, al igual que la del humano, por *unidades gástricas*, conformadas por tres elementos: 1) Epitelio de revestimiento cilíndrico simple superficial, 2) Fosetas gástricas, formadas por la invaginación del epitelio hacia la lámina propia y 3) Glándulas gástricas, que se forman en el fondo de estas fosetas, morfológicamente clasificadas como tubulares simples ramificadas; según la región anatómica, presentaran cambios, sobre todo a nivel de la constitución de su epitelio. (Fig. 2). Entre el epitelio que tapiza estas glándulas se encuentran: las células principales, ubicadas en la región baja de la glándula; muestran intensa basofilia; las células parietales ocupan la mitad superior de la glándula y las células del cuello se encuentran cerca de la abertura de la foseta.

La lámina muscular de la mucosa es delgada. La región del fondo, está tapizada por un epitelio estratificado plano queratinizado. La muscular de la mucosa disminuye en grosor desde esta región hacia la región glandular. (Fig. 2A)

En la submucosa se encuentra tejido conectivo laxo con presencia de vasos sanguíneos. La capa muscular es gruesa, conformada por capas con orientación espiral interna, oblicua y circular externa; entre ellas se observa el plexo mientérico.

La morfogénesis de la unidad gástrica del cuerpo se ha examinado en embriones de ratón normal desde el día embrionario 18 (E18) hasta el día postnatal 28 (P28) con microscopia electrónica e inmunohistoquímica, encontrando que en E18 las unidades gástricas se muestran cortas, como repliegues solidos (brote primordial), y el 92% de células corresponden a células parietales y precursoras del cuello. Aunque el número de células no cambia de P1 a P7, las células inmaduras disminuyen al 22% a medida que las diferenciadas aparecen.

De P7 a P15, los linajes precursoros y su progenie diferenciada se incrementan y alargan la yema, sin embargo la literatura reporta que en este periodo de tiempo no hay modificaciones significativas en el desarrollo gástrico<sup>7</sup>.

Entre P15 y P21 las células madre multipotenciales y su descendencia se reúnen en una zona proliferativa distinta (istmo) localizada en la porción media de cada unidad, y los programas de diferenciación y migración celular se vuelven compartimentados<sup>7</sup>. El moco que recubre el epitelio gastrointestinal consta de dos capas, una interna firmemente adherida, de espesor considerable y con una continuidad incrementada en zonas como estomago e íleon; y una capa externa pobremente adherida formada por la degradación

proteolítica y glicosídica de mucinas polimerizadas en gel como MUC2. En la mucosa gástrica del estómago humano se ha descrito la presencia de MUC5AC, MUC6 y MUC2<sup>8</sup>.

Los microorganismos se asocian sobre todo a la capa de moco externa que cuenta con las condiciones necesarias para la colonización microbiana; un ejemplo de ello es la presencia de mucinas ricas en oligosacáridos (MUC2) que proporcionan numerosos sitios de fijación y fuente de energía. Por su parte, la capa de moco interna no presenta colonización alguna, siendo este un indicador de su función como barrera protectora ante la invasión de las células epiteliales subyacentes. El espesor de las capas de moco se mantiene por un fino equilibrio entre la síntesis, secreción, y degradación, modulada por las glicosidasas, proteasas microbianas y fuerzas de barrido mecánico del peristaltismo<sup>9</sup>.

La microbiota y sus derivados pueden modular la síntesis y secreción de mucina, ya sea por la activación directa de cascadas de señalización o por medio de factores inducidos a las células epiteliales y la lámina propia. Algunos patógenos entéricos logran eludir la barrera mucosa por medio del desarrollo de movilidad, actividad mucolítica y otros factores de virulencia, causando la degradación y penetración de las capas mucosas para posteriormente invadir las células epiteliales, esto generalmente perpetúa la alteración de base y crea el ambiente propicio para el crecimiento del microorganismo<sup>9</sup>.

Se ha observado que estas glicoproteínas se modifican estructural y funcionalmente como respuesta a procesos inflamatorios o de degeneración cancerosa.

La caracterización de las mucinas no ha sido fácil debido entre otros factores a su gran peso molecular, polidispersidad y alto grado de glicosilación. Existen estudios biofísicos, de microscopía electrónica de transmisión, microscopía de fuerza atómica, técnica de dispersión de luz dinámica, técnicas reológicas para mostrar el grado de gelación de las mucinas.

En el diagnóstico patológico los métodos de amplio uso incluyen técnicas histoquímicas e inmunohistoquímicas; para evidenciar la presencia de carbohidratos en un tejido se tienen tres técnicas de predilección: Reactivo de Schiff (PAS), Alcian blue (AB) y HID (High Iron Diamine) contrastado con Alcian blue PH 2.5.

## METODOLOGÍA

Estudio observacional descriptivo, donde se utilizaron 29 biomodelos de ratón *Mus musculus*, 23 hembras y seis machos en edad reproductiva fértil con peso promedio de 20-30 g, suministrados por el Bioterio de la Facultad de salud de la Universidad del Valle, el cual cumple con los requerimientos establecidos en las normas nacionales e internacionales recogidas en el manual del bioterio de la Facultad de Salud, Ley 84 de 1989, (Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio del Institute of Laboratory Animal Research, Comisión on Life Sciences National Research Council y reglamento del Bioterio (Resolución No. 171 de Noviembre 10 de 2004 del Consejo de la Facultad de Salud). El estudio cumplió con las normas científicas técnicas y administrativas para la investigación en salud, recibió aprobación del comité de ética animal de la Universidad del Valle.

Los procedimientos que se emplearon durante el presente estudio no causaron sufrimiento a los biomodelos, ya que durante las etapas experimentales estuvieron en plano anestésico profundo. Durante la permanencia en el bioterio, el bienestar de los biomodelos fue continuamente supervisado por el grupo de trabajo con la ayuda del veterinario asignado y todos los procedimientos fueron llevados a cabo teniendo presentes las normas de bioseguridad.

Las 23 hembras se sometieron al esquema de apareamiento y variación periódica de los mismos<sup>10</sup> se determinó como parámetro de preñez, la presencia de tapón vaginal, siendo denominado como día 0.5 gestacional. Se obtuvo un total de 73 embriones para las edades E15 a E18.5 y 154 individuos postnatales en estadios P1 a P7 y P15 a P24.

Al completar la edad gestacional definida, tanto la hembra como los biomodelos de edades postnatales se sometieron a sedación con isofluorano (cinco (5) ml en mota de algodón y anestesia (tres (3) ml de pentobarbital sódico vía intraperitoneal) previo a la perfusión intracardíaca con bomba peristáltica (Easy-Load Masterflex- EEUU) de 15 ml de solución salina al 0.9%; seguida de 30 ml de solución fijadora (formol tamponado al 10%). Se realizó extracción del bloque esófago-estómago con ayuda del microscopio estereotáxico (Meiji RZT techno-Japón). Las muestras obtenidas se postfijaron por 24 horas, se procesaron para inclusión en parafina (Paraplast); una vez

obtenidos los bloques, se realizaron cortes de dos  $\mu\text{m}$  de grosor (micrótomo *Leica® RM 2135®*-Alemania), se colorearon con las técnicas de Hematoxilina/Eosina (H.E), Alcian Blue pH 2.5 y PAS. Durante el proceso de inclusión cada espécimen fue cuidadosamente orientado procurando que el plano de la mucosa quedara perpendicular a la superficie de corte para garantizar una apropiada evaluación de todo el espesor de la pared.

Las preparaciones obtenidas fueron observadas y fotografiadas en microscopio de luz (*Leica 750* – cámara DFC 295-Alemania).

## RESULTADOS

El estómago del ratón *Mus musculus* presenta dos regiones claramente diferenciadas desde el estadio E15; la proximal al esófago, el fondo, presenta una mucosa tapizada por epitelio plano estratificado queratinizado, apoyado en escaso tejido mesenquimatoso que conforma la lámina propia; el otro segmento gástrico, equivalente a las dos terceras partes del órgano, es el cuerpo, porción que forma la región central principal; su mucosa presenta las unidades gástricas conformadas por una capa de células epiteliales cilíndricas que se invaginan formando las foveolas o caveolas (pits) gástricas, las cuales continúan como glándulas tubulares

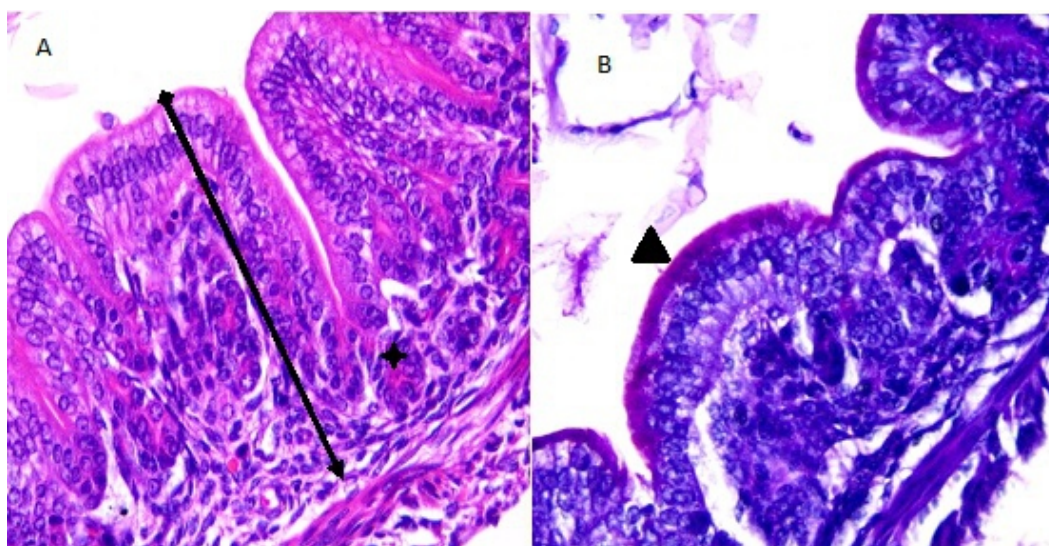
simples ramificadas, según la edad del biomodelo (Figura 2B.)

### Periodo embrionario

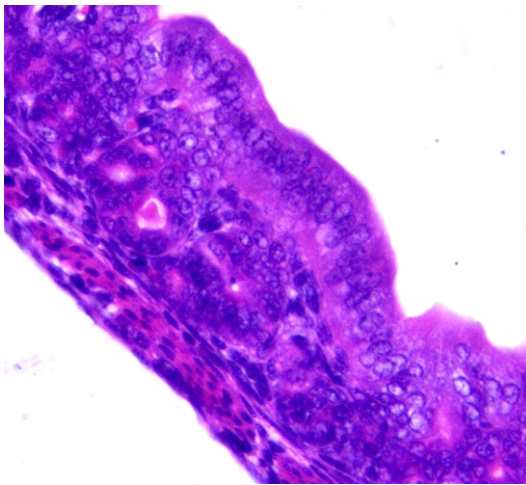
En el presente estudio, en los estadios embrionarios E15 y E16 se observó desarrollo de la capa epitelial superficial de epitelio de la mucosa gástrica, con morfología cilíndrica de una sola hilera; se encontraron cortas e incipientes invaginaciones epiteliales (foveolas primitivas) hacia una delgada lámina propia, ocupada aún con tejido mesenquimal. Son escasos los brotes glandulares que se encuentran.

A partir del día E15 la muscular de la mucosa es evidente. Hacia el día E17.5 es notable el desarrollo de la mucosa, tanto en grosor como en área, pues los pliegues laterales, propios de la organización gástrica, se evidencian con facilidad. (Fig. 3)

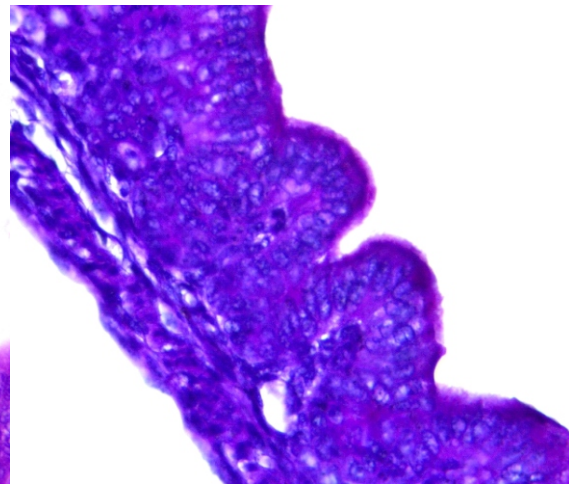
El epitelio superficial, de morfología cilíndrica, presenta borde apical intensamente acidófilo al observar las preparaciones con H.E., el núcleo ovoide de estas células, ocupa una posición ligeramente basal; en muchas de ellas se observan en el citoplasma apical pequeñas vacuolas (espacios sin colorear), evento que hace poco homogénea esta región. Con la



**Figura 3.** A. En estómago de estadio embrionario E17.5, se puede observar el aumento en la túnica mucosa, particularmente aumento de espesor de la lámina propia (Doble flecha). En la lámina propia se encuentra mayor aumento de los brotes correspondientes al desarrollo de las unidades glandulares (Estrella) Estadio 17.5 H.E. 4X. B. La superficie epitelial apical de la mucosa se muestra PAS+ (Cabeza de flecha) Estadio 17.5 PAS. 40X



**E18. H.E. 40X**



**E18. PAS. 40X**

**Figura 4. A.** El periodo prenatal tardío se caracteriza por aumento en el espesor de la túnica mucosa, con aumento en la formación de fosetas gástricas cortas, las cuales están tapizadas por epitelio cilíndrico simple. Algunas células apicales muestran pequeñas vacuolas en la región supranuclear. E18 H.E. 40X. **B.** El epitelio de revestimiento se muestra PAS+

coloración de ácido peryódico, el borde apical del epitelio superficial cilíndrico simple, lo mismo que las pequeñas fosetas embrionarias en formación son PAS+; aún con esta tinción se pueden detectar las células con las vacuolas en el citoplasma apical. (Figura 4).

Desde el estadio E17.5, y más evidente en el estadio E18 algunas células del epitelio superficial presentan gránulos positivos para PAS en su región supranuclear. Durante estos estadios no es posible diferenciar otras regiones de la unidad gástrica ni otros tipos celulares tales como células parietales o zimogénicas.

### Periodo Postnatal

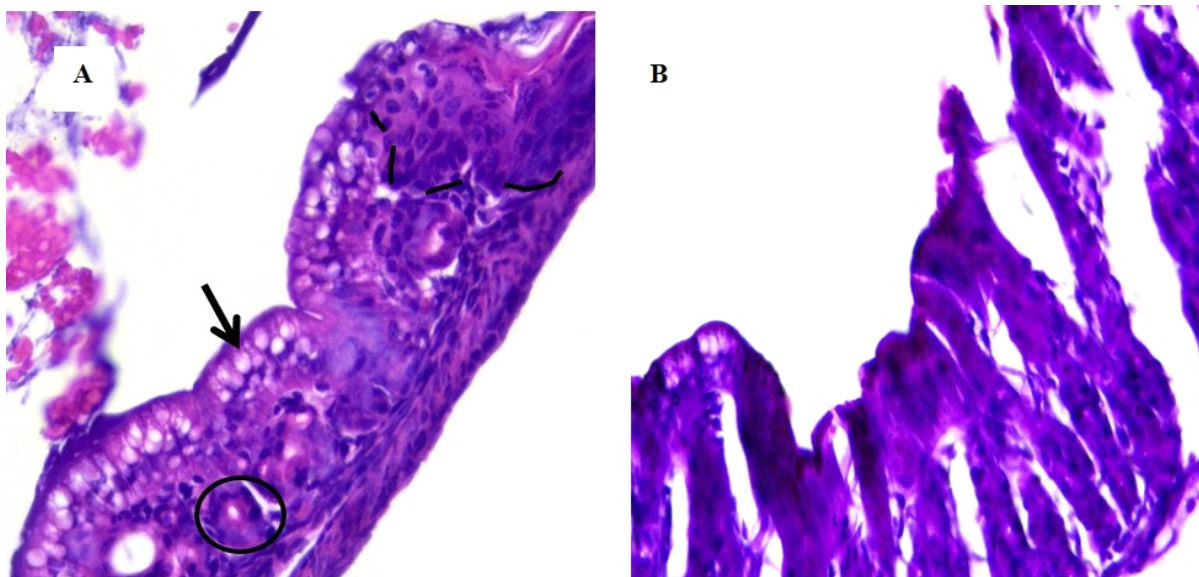
A partir del día P1 es posible diferenciar algunas partes de la organización glandular típica de la vida adulta, conformada a partir del epitelio de revestimiento superficial y su invaginación, la foseta, el istmo y la base glandular en el límite externo de la mucosa. En este estadio, se observan las fosetas gástricas cortas; no es posible establecer diferencias entre los tipos epiteliales en la unidad glandular al ser revisada con H.E. (Fig. 5.)

Al analizar las preparaciones con tinción de PAS, se pueden observar dos tipos celulares: Un tipo, escaso, que presenta gran cantidad de gránulos PAS (+) en el citoplasma supranuclear; otro tipo celular, mucho más abundante, donde los gránulos tiñen pálidamente y se

encuentran en menor número. Toda la superficie de la membrana citoplasmática apical es PAS +. Algunas de las muestras obtenidas se colorearon con Alcian Blue pH 2.5, sin embargo, ninguna marcó positiva para esta coloración. La reacción del epitelio superficial a la coloración PAS permaneció estable durante todos los estadios analizados, se observó que a medida que las glándulas gástricas maduran y aumenta su profundidad, las células PAS (+) se observan tanto en la foseta como en el istmo.

Al revisar la zona cercana al fondo gástrico, región donde ocurre cambio de epitelio plano estratificado queratinizado a cilíndrico simple, se encuentran abundantes células con vacuolas citoplasmáticas apicales, las cuales permanecen hasta los estadios avanzados (P18). Entre ellas se encuentran otras células cuya morfología es muy similar a las células caliciformes, con núcleo alargado, basal, citoplasma en forma de cáliz, ligeramente pálido; al observar los mismos estadios preparados con PAS, éstas células son positivas al colorante, ofrecen definidos gránulos citoplasmáticos; en los estadios postnatales P20 ya no se observan. Llama la atención que este tipo celular epitelial se limita al epitelio superficial, es decir, no se encuentra en las fosetas ni en otra región glandular.

Las pequeñas bases glandulares que se determinan en cortes transversales, en los estadios postnatales



**Figura 5. A.** La región límite entre el cuerpo y fondo se observa caracterizada por el cambio de epitelio plano estratificado queratinizado a cilíndrico simple (línea discontinua). Se identifican algunas células superficiales con vacuolas en el citoplasma apical, núcleo basal alargado, muy semejante a caliciformes. En lámina propia se reconocen sectores de unidades gástricas correspondientes a la base. (Círculo) Estadio P2 H.E. 40X. **B.** Al comparar la preparación coloreada con H.E. con el mismo estadio con tinción de PAS, las células semejantes a caliciformes son PAS (+) con gruesos gránulos apicales. Estadio P2 PAS. 40X

tempranos están conformadas por células epiteliales cilíndricas entremezcladas con algunas positivas para PAS. Conforme avanzan los días, se observa maduración de los componentes de la unidad gástrica y es así como hacia el estadio P15 ya se encuentra total definición de todos los componentes de la unidad gástrica; presentan gran ramificación de sus porciones secretoras con células parietales y mucosas de cuello. La muscular externa está bien definida; en la submucosa se encuentra gran desarrollo de los vasos sanguíneos, con amplitud en el grosor de la capa.

Cerca de la edad del destete (P21), ya se tiene completa madurez de la mucosa gástrica del cuerpo. A nivel del epitelio superficial la cantidad de células PAS positivas ha disminuido, si bien persiste el borde de la membrana citoplasmática apical intensamente marcado.

En estadios tardíos es evidenciable el cambio en la morfología de las células del epitelio de revestimiento apical gástrico, persisten las descritas en los estadios postnatales tempranos, con escasos gránulos apicales; aquellas con gruesos gránulos supranucleares se conservan exclusivamente en la zona de las fosetas y cuello de la unidad gástrica.

## DISCUSIÓN

Las características macroscópicas del tracto gastrointestinal de los mamíferos, incluido el estómago, difieren considerablemente entre las especies, aunque desde el punto de vista histológico, conservan similitudes básicas. Todos los cambios morfológicos están influidos por factores como la frecuencia de ingesta, necesidad de conservación de los alimentos, forma y tamaño del cuerpo. En el ratón, dada su importancia en la investigación gastroenterológica, es importante tener muy clara su morfología. El estómago se considera conformado por dos regiones fundamentalmente, 1) La región del fondo, tapizada por epitelio estratificado plano queratinizado, con un estrato granuloso muy visible. Esta región es no glandular, no comprometida con la actividad secretora de la mucosa gástrica; desempeña un importante papel en el almacenamiento de alimentos y contribuye a la fase mecánica de la digestión; no es comparable con la porción gastro-esofágica humana<sup>5</sup>. Se observa completamente desarrollada desde estadios tan tempranos como E15, 2) La región del cuerpo gástrico, conforma los dos tercios del órgano, tapizada por epitelio cilíndrico simple, comprometida con los

procesos de secreción gástrica. Autores como Karam le definen una tercera zona, el antro pilórico, cuya única diferencia con el cuerpo lo constituye la profundidad de las fosetas gástricas<sup>6</sup>.

En el ratón, el primordio del estómago inicia entre el noveno y décimo día (E10)<sup>11</sup>. Si bien su mucosa gástrica, al igual que la humana está conformada por epitelio de revestimiento, lámina propia y muscular de la mucosa, en estadios embrionarios tempranos, solo se diferencia una delgada capa epitelial apoyada en escaso tejido mesenquimal. Desde el día E15.5, las células epiteliales de revestimiento de la mucosa gástrica se encuentran organizadas en una hilera, conformando un epitelio cilíndrico simple, cuyas células presentan gránulos supranucleares PAS +, visible solo en la región superficial, células que por sus características se pueden clasificar como precursoras de las mucosas; las células que comienzan su invaginación para formar las fosetas gástricas en este estadio embrionario temprano no son PAS +. Autores como Karam diferencian en periodos postnatales (desde P1) dos tipos de células mucosas, mucosas de superficie (recubren las fosetas) y mucosas de cuello, en el presente estudio ambos tipos se evidenciaron desde el periodo embrionario tardío (E17.5), siendo más evidentes en el periodo neonatal temprano<sup>12</sup>.

Los mismos autores postularon que las células libres de gránulos que invaginan hacia las fosetas, continúan su proceso de migración hacia el ístmo y se convierten en células madre multipotenciales que posteriormente darán origen a tres tipos de células progenitoras: pre-Fosetas, pre-cuello y pre-parietales<sup>12</sup>. En 2007, Victoria G. Ramsey, Jason M. Doherty y colaboradores demostraron el papel que *Mist1* tiene en el proceso de maduración de las células pre-cuello a células ciliadas, ellos expresan que el proceso de diferenciación involucra una transición en la formación de gránulos, inicialmente mucosos, y posteriormente gránulos de naturaleza serosa que toman su posición apical<sup>13</sup>.

En las edades embrionarias y neonatales analizadas en el presente trabajo, se encontraron células semejantes a ciliadas a partir de P21. La presencia de moco desde tan temprana edad indica la importancia que éste tiene como sistema de protección epitelial al ambiente gástrico, entorno que recibe influencias de bacterias patógenas, abrasión física y en periodos prenatales, deshidratación. En periodo embrionario no puede

considerarse el ambiente ácido pues no se encuentran indicios de desarrollo de células parietales.

Al correlacionar los presentes hallazgos donde se encuentra desde estadios embrionarios tempranos alta producción de mucinas neutras (PAS+) con los estudios inmunohistoquímicos, se puede afirmar que el moco presente en estos estadios corresponde a *Muc1*, glucoproteína transmembrana, altamente inmunogénica en ratón, que al secretarse además de formar un gel protector entre el ambiente celular y el medio, se relaciona con la adhesión celular, lo cual facilita o inhibe los mecanismos de migración y morfología celular. Cuando se presentan cambios en los niveles de expresión de glicosilación de esa mucina en humanos, se asocian a múltiples patologías, entre ellas el carcinoma; en el ratón la *Muc1* no expresa el polimorfismo VNTR (Variable Number Tandem Repetition) propio de la población humana<sup>14,15</sup>.

Los estudios de Lacunza y colaboradores mostraron que la presencia de *Muc1* en etapa embrionaria se relaciona con los procesos de morfogénesis gástrica temprana<sup>16</sup>. Llama la atención que conforme avanza el desarrollo gástrico, la cantidad de células de superficie PAS+ disminuye, conservándose solo en la membrana citoplasmática, lo cual podría corresponder a la mucina que se secreta como primera barrera de defensa y queda limitada a la membrana celular, apoyados en los estudios de Lacunza, se puede afirmar que al completar la organogénesis gástrica, la cantidad de *Muc1* debe disminuir pues su papel en la organogénesis ya no es prioritario o por otro lado, comienza la producción de otro tipo de mucina, probablemente la *Muc5AC*, mucina que se activa en etapa de madurez.

Las células encontradas en la unión del cuerpo con el fondo, cuya morfología es semejante a caliciformes, también fueron reportadas en el estudio realizado por Theresa M. Keeley y Linda C. Samuelson en 2010 las denominaron células inusuales de la superficie epitelial; al estudiarlas más a fondo en búsqueda de su relación con la madurez de las células mucosas, y colorearlas con Oil Red O encontraron que el contenido citoplasmático era de lípidos, provenientes probablemente de la absorción de grasas de la dieta<sup>17</sup>.

Karam y colaboradores reportaron presencia de invaginaciones gástricas, para conformar las unidades gástricas desde el día E18, fecha en que iniciaron las observaciones. El desarrollo de las unidades gástricas

encontrado en el presente estudio se observa desde E15, más notorias en E16 como pequeños brotes o yemas hacia el tejido mesenquimal. En periodo postnatal las glándulas aumentan en longitud, se ramifican y ocupan gran parte de la lámina propia, la cual se encuentra con gran cantidad de vasos capilares. Karam y col. reportan mediante microscopia electrónica de transmisión la presencia de ramificación glandular hacia el día P21 y demostraron que por cada foseta existen 37 células, 13 células de cuello por unidad y en la vida adulta se desarrollan 67 células cimogénicas por unidad gástrica en el presente estudio, hacia el día P28 se encontraron totalmente desarrolladas todas las unidades glandulares, con notoria presencia de las células parietales y zimogénicas. Son pocas las células Pas + que se ubican en la región del istmo<sup>6</sup>.

Se puede concluir que el epitelio superficial del estómago de ratón se compone de tipos variables de células, entre ellas absortivas, linaje que es sustituido por las células mucosas secretoras maduras cuando las glándulas maduran; por otro lado, en el desarrollo de la mucosa del cuerpo, particularmente del epitelio, el proceso de diferenciación epitelial se encuentra muy ligado a la producción de mucinas, las cuales dada su aparición temprana estarían más unidas a la histogénesis glandular que a los procesos de protección que toman prioridad en la vida adulta.

## AGRADECIMIENTOS

A la vicerrectoría de investigaciones por el apoyo brindado en la convocatoria interna de año 2011 al proyecto titulado “Expresión y aparición de las mucinas gástricas embrionarias y fetales utilizando microarreglos de tejidos”, del cual se derivó el presente trabajo.

## REFERENCIAS

1. Society AC. American Cancer Society: Cancer Facts and Figures 2014. J Natl Cancer Inst 2012; 104: 488-492

2. Piñeros Petersen M PRC, Gamboa Garay O, Hernández Suárez G, . Atlas de mortalidad por cáncer en Colombia 2010
3. Dharmani P, Srivastava V, Kissoon-Singh V, Chadee K. Role of intestinal mucins in innate host defense mechanisms against pathogens. J Innate Immun 2009; 1: 123-135
4. Bjerknes M, Cheng H. Multipotential stem cells in adult mouse gastric epithelium. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2002; 283: G767-G777
5. Ghoshal NG, Bal HS. Comparative morphology of the stomach of some laboratory mammals. Lab Anim 1989; 23: 21-29
6. Karam SM. Cell lineage relationship in the stomach of normal and genetically manipulated mice. Braz J Med Biol Res 1998; 31: 271-279
7. Karam SM, Li Q, Gordon JI. Gastric epithelial morphogenesis in normal and transgenic mice. Am J Physiol 1997; 272: G1209-G1220
8. Linden SK, Sutton P, Karlsson NG, Korolik V, McGuckin MA. Mucins in the mucosal barrier to infection. Mucosal Immunol 2008; 1: 183-197
9. McGuckin MA, Every AL, Skene CD, Linden SK, Chionh YT, Swierczak A, et al. Muc1 mucin limits both *Helicobacter pylori* colonization of the murine gastric mucosa and associated gastritis. Gastroenterology 2007; 133: 1210-1218
10. Mendoza S, Bravo. Obtención de especímenes murinos embrionarios-fetales para investigación en ciencias biomédicas. Rev Med Vet 2013; 26: 79-89
11. Theiler K. The House Mouse: Atlas of Embryonic Development. Second edition: Springer-Verlag 1989
12. Karam SM, Straiton T, Hassan WM, Leblond CP. Defining epithelial cell progenitors in the human oxyntic mucosa. Stem Cells 2003; 21: 322-336
13. Ramsey VG, Doherty JM, Chen CC, Stappenbeck TS, Konieczny SF, Mills JC. The maturation of mucus-secreting gastric epithelial progenitors into digestive-enzyme secreting zymogenic cells requires Mist1. Development 2007; 134: 211-222
14. Ganesh IM, Subramani D, Halagowder D. Mucin glycoarray in gastric and gallbladder epithelia. J Carcinogenesis 2007; 6: 10
15. Gendler SJ. MUC1, the renaissance molecule. J Mammary Gland Biology Neoplasia 2001; 6: 339-353
16. Lacunza E, Ferretti V, Barbeito C, Segal-Eiras A, Croce MV. Immunohistochemical evidence of Muc1 expression during rat embryonic development. EJM 2010; 54: e49
17. Keeley TM, Samuelson LC. Cytodifferentiation of the postnatal mouse stomach in normal and Huntingtin-interacting protein 1-related-deficient mice. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2010; 299: G1241-G1251