

DETERMINACION INMUNOHISTOQUÍMICA DE CÉLULAS PRODUCTORAS DE GASTRINA EN ESTOMAGO DE IGUANA OVERA (*Tupinambis merianae*).ESTUDIO PRELIMINAR

Sabrina Ramona Gimenez Jalil¹, Graciela Esther Sagripanti Centeno², Virginia Hebe Mac Loughlin Roy³, Pascual Guillermo Dauría Maglione⁴,

¹ Tesista de grado, Alumna carrera Licenciatura en Biología, Histología-FAV. UNRC. Río Cuarto. Argentina

² Histotecnóloga, Histología-FAV.UNRC-Río Cuarto-Argentina.

³ Doctora, JTP Exc, categoría V, Histología-FAV.UNRC-Río Cuarto- Argentina.

⁴ MSC, Prof Asociado Exc, categoría III, UNRC- Río Cuarto- Argentina

Correo electrónico del primer autor: sgimenezj@gmail.com

RESUMEN

El lagarto overo o iguana overa (*Tupinambis merianae*) es una especie de lagarto de la familia Teiidae. Uno de los aspectos ha considerar, a fin de aportar nuevos conocimientos respecto a esta especie, fue el sistema digestivo y específicamente las hormonas gastrointestinales (GI). Las mismas son secretadas por células endocrinas que se distribuyen a lo largo del tracto gastrointestinal ejerciendo un gran efecto en la regulación, movilidad y crecimiento del sistema digestivo como así también sobre las emociones y la conducta. Objetivos: describir la arquitectura histológica del estómago y determinar a través de la técnica inmunohistoquímica la presencia de células productoras de gastrina. Para ello se utilizaron dos crías de **iguana overa del Criadero "El quebracho" de Agua de Oro (Cba)**. Se tomaron muestras de estómago, las mismas fueron fijadas en formol bufferado al 10 %, incluidas en parafina y procesadas mediante la técnica histológica convencional. La detección de células G se realizó por técnicas inmunohistoquímicas con anticuerpos comerciales. Resultados: las tinciones de hematoxilina eosina permitieron describir la arquitectura histológica del órgano. El mismo presenta dos regiones: una proximal con glándulas tubulares ramificadas con predominio de células mucosas del cuello y células basófilas, y otra distal con glándulas tubulares simples con predominio de células acidófilas. La inmunoexpresión de células G se observó tanto en epitelio, glándulas y tejido conectivo. Se concluye, que la morfología del estómago de la iguana overa responde al patrón estructural básico observado en algunos reptiles. Se determina además la presencia de células G en esta especie.

PALABRAS CLAVE:

IGUANA OVERA-ESTOMAGO-INMUNOHISTOQUIMICA-HORMONA-CÉLULAS G

INTRODUCCIÓN

El género *Tupinambis* se distribuye ampliamente al este de los Andes, en gran parte de América del Sur. Actualmente se reconocen seis especies del género (*T. duseni*, *T. longilineus*, *T. merianae*, *T. quadrilineatus*, *T. rufescens* y *T. teguixin*). La especie *Tupinambis merianae*, es conocida vulgarmente como lagarto o iguana overa.

En Argentina, se las encuentra en la región oriental en ambientes mesófilos. Además se distribuye en Bolivia, Brasil, Paraguay y Uruguay (Brizuela y Albino., 2010).

El aparato digestivo de los vertebrados superiores, especialmente el de los mamíferos, se encuentra ampliamente estudiado, sin embargo existen pocos estudios referidos a aquellos animales que les preceden en la escala evolutiva, como los peces, anfibios y reptiles (Lacave, 1978). El sistema digestivo de los reptiles, contiene todas las estructuras presentes en otros vertebrados superiores, desde la cavidad oral hasta la cloaca (Elliot, 2007).

El estómago de los reptiles varía en su forma de acuerdo a la especie (Elliott, 2007). En las tortugas, el mismo presenta una curvatura mayor y una menor, en cocodrilos el estómago es sacular, en lagartos ovoide, mientras que el estómago de serpientes es alargado (Madrid *et al.*, 1989). Histológicamente, Luppá en 1977 establece que la mucosa del estómago varía entre los diferentes grupos de reptiles. En el mismo, suelen distinguirse dos zonas o regiones: una región proximal o fúndica y una región distal o pilórica (Ahmed *et al.*, 2009). La mucosa de la región fúndica consta de glándulas tubulares ramificada. Cada glándula está compuesta por una foseta gástrica y un cuerpo glandular (Elliott, 2007), estas se encuentran formadas por diferentes tipos celulares: las células mucosas del cuello y células oscuras (oxinticoptic cells). Las células mucosas del cuello poseen características similares a las descritas en mamíferos pueden estar presentes en serpientes o ausentes en otros reptiles tales como las tortugas (Ahmed *et al.*, 2009).

Células enteroendócrinas han sido detectadas en el tracto gastrointestinal. Las mismas poseen funciones similares a las estudiadas en mamíferos (Krause *et al.*, 1985; Ahmed *et al.*, 2009).

Las mismas son hormonas metabólicas secretadas en el tracto gastrointestinal, siendo su secreción estimulada por la presencia o ausencia de determinados nutrientes (Relling y Mattioli., 2010). La mayoría de estas hormonas son polipéptidos y aminos que han sido localizadas en otros tejidos y órganos, teniendo allí, funciones no relacionadas a la digestión estableciendo vínculos entre el TGI y otros órganos como el cerebro (Lílido y Ramírez., 2008). Dichas sustancias, ejercen sus acciones a través de receptores que se encuentran unidos a la membrana celular conocidas como proteínas G, que permiten la unión de las hormonas y los neuropéptidos con su receptor, el cual se encuentra presente en la célula diana (Jimenez *et al* 1966).

La presencia de las principales hormonas gastrointestinales tales como gastrina, secretina, colecistoquinina, motilina entre otras, ha sido demostrada sobre todo en mamíferos y en algunas especies de peces. Estas hormonas están acompañadas, a lo largo del tracto digestivo, por otras no menos importantes cuya función no es del todo conocida, como ocurre con el péptido intestinal vasoactivo (VIP), la sustancia P, somatostatina, cromogranina y el neuropéptido Y. Además, las mismas se distribuyen en diferentes porciones del tracto digestivo como el estómago, duodeno, yeyuno, íleon, colon y ciego (Dauria *et al*, 2012).

La gastrina es un péptido que posee varias formas moleculares, es el principal regulador de la secreción ácida del estómago y también promueve el crecimiento de la mucosa gástrica. Es el principal agente regulador de la secreción ácida del estómago (Torres Galan; 1995). Es producida por las células enteroendocrinas G, localizadas en el duodeno y entre las células epiteliales de las glándulas gástricas (Holmgren y Nilsson, 1993 ; Yoshida *et al.*, 1983).

La técnica inmunohistoquímica permite identificar a las células productoras de dicha hormona. Esta técnica consiste en detectar y localizar antígenos (Ag) in situ (cortes de tejido, extensiones celulares e incluso pequeños organismos u órganos in toto) utilizando anticuerpos (Ac) que reconocen específicamente a ese Ag (Badia *et al.*, 2009).

A fin de aportar nuevos conocimientos respecto a *Tupinambis merianae*, uno de los aspectos a tratar es el sistema digestivo y específicamente las hormonas gastrointestinales. Es por ello que es objetivo de este trabajo describir la arquitectura histológica del estómago y determinar la presencia y distribución de la hormona gastrointestinal gastrina en estómago de *Tupinambis merianae* mediante inmunohistoquímica (IHQ).

Los datos obtenidos en el mismo colaboraran a llenar el vacío proporcionado por la falta de datos biológicos y morfológicos en *T. merianae*, consolidar la línea de investigación sobre la morfología, y contribuir a la preservación de las especies.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 2 (dos) crías de iguana overa (*Tupinambis merianae*) las cuales fueron obtenidas del Criadero "El quebracho" de Agua de Oro (Provincia de Córdoba) a finales de marzo principio de abril; ya que el período de cortejo y cópula se extiende desde octubre hasta noviembre y las crías nacen en el mes de Febrero (Bolkovic y Ramadori, 2006). Las mismas fueron procesadas y se les extrajo las correspondientes muestras de estómago e intestino, y se fijaron en formol bufferado al 10%, para su posterior procesamiento por la técnica histológica convencional, y otra parte de las muestras serán sometidas a la técnica de inmunohistoquímica.

Procesamiento histológico del material

Las muestras fueron fijadas con formol neutro tamponado con el objetivo de detener los procesos de degradación que ocurren durante o tras la muerte celular (autólisis y putrefacción), insolubilizar los componentes celulares, dotar de consistencia al tejido y facilitar las técnicas de tinción (Badia *et al.*, 2009). Posteriormente las mismas se deshidrataron con baterías de alcoholes de graduación creciente (70%, 96%, 100% y Benceno) para luego ser incluidas en parafina. Se realizaron cortes de 4 µm de espesor, los cuales se obtuvieron mediante el uso de un micrótopo de deslizamiento, se los estiró en baño histológico y se montaron en los portaobjetos. De cada muestra se prepararon alrededor de 20 portaobjetos que contiene al menos dos secciones, a fin de ser sometidos a las técnicas de tinción.

Los cortes de las regiones del estómago fueron sometidos a la técnica convencional de hematoxilina-eosina y a la técnica de estreptoavidina-peroxidasa para la detección de antígeno presentes en el epitelio y glándulas del estómago, esta última se realizó de la siguiente manera: las secciones del tejido se desparafinaron en xileno y alcohol-xileno durante 15 minutos en cada uno y se hidrató en soluciones de alcohol decreciente (alcohol 100%, 96%, 80% y 70% respectivamente), luego se sometieron a un baño en PBS (tampón fosfato salino pH 7,2). Más tarde, se realizó el bloqueo de la peroxidasa endógena añadiendo peróxido de hidrógeno al PBS (H_2O_2 de 30 volúmenes diluidas en PBS 1/10) durante 30 minutos a temperatura ambiente y luego se lavó con PBS durante 10 minutos. Luego los preparados fueron cubiertos con solución de bloqueo de los sitios de unión inespecífica (suero de caballo dilución 1/100: 50 µl de suero en 5000 µl de PBS) y se incubaron en una cámara húmeda durante 30 minutos a temperatura ambiente. Poco después, se agregó el anticuerpo primario (Anti-gastrina Gastrin(H-90) sc 20729, Lct # A31 C3 Santa Cruz, dilución 1/100), los preparados se

incubaron durante 24 horas en una cámara húmeda a 4° C. Transcurrido al tiempo se los lavo con PBS durante 10 minutos y se les añadió el anticuerpo secundario anti-IgG biotinilado (link del kit cell marque) y se incubaron durante 10 minutos en una cámara húmeda a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo se lavo con PBS y se colocó el reactivo avidina-peroxidasa (Label del kit cell marque) seguido de incubación durante 30 minutos a cámara húmeda a temperatura ambiente. La reacción se desarrolló utilizando una solución de Diaminobencidina (DAB) en agua. Posteriormente se lavo los portaobjetos con agua corriente y contra-tinción con hematoxilina. Los portaobjetos se deshidrataron en alcoholes el aumento de (70%, 80%, 96%, y 100), se aclaró en alcohol-xileno y luego en xileno, luego se realizó el montaje.

Los resultados obtenidos por las técnicas descriptas serán evaluados bajo microscopio óptico Axiophot (Carl Zeiss, Alemania). Se efectuó un registro fotográfico de los mismos mediante una cámara digital powershot G6, 7.1 megapixels (Canon INC, Japón) incorporada al microscopio óptico.

Los resultados obtenidos por medio del estudio inmunohistoquímico se expresaron, en forma cualitativa, según la siguiente clasificación:

Reacción intensa: (+++) Reacción moderada: (++) Reacción débil: (+) Reacción negativa: (-)

RESULTADOS

En la figura 1 podemos observar la región proximal o región fundica del estómago, en la cual se destacan las cuatro túnicas básicas del aparato digestivo. La túnica mucosa se encuentra plegada, en la misma se observa un epitelio conformado por células cilíndricas dispuestas en una sola capa. Este epitelio presenta invaginaciones que dan lugar a las denominadas criptas gástricas. Tanto en la superficie como en las criptas el epitelio es de tipo cilíndrico simple. Por debajo de este, encontramos una lámina propia de tejido conectivo laxo en el cual se destaca la presencia de glándulas gástricas. Las mismas en esta región son tubulares ramificadas, en ellas se puedan observar células mucosas del cuello y células con características morfológicas similares a las células principales y parietales descriptas en mamíferos. La túnica mucosa se completa con una muscular de la mucosa de tejido muscular liso dispuesto en dos capas: circular interna y longitudinal externa. Luego se aprecia la túnica submucosa de tejido conectivo denso con abundantes vasos sanguíneos y también se destaca la presencia de plexos nerviosos.

La túnica muscular se observa dispuesta en dos capas circular interna y longitudinal externa, entre ellas se aprecia el plexo mientérico. Este órgano se completa con una delgada capa que se corresponde a la túnica Serosa.

En la figura 2 se aprecian a mayor aumento las células que componen las glándulas gástricas de la región proximal del estómago. Se observan en la región del cuello células levemente teñidas de forma cilíndrica muy parecidas a las células epiteliales con un núcleo en la región basal las mismas corresponden a las células mucosas del cuello. Además se observaron células cuboides o de forma poliédricas que presentan diferentes intensidades de tinción. En esta región son más abundantes aquellas teñidas basófilas cuya característica responde a las descripciones realizadas en mamíferos para células principales, sin embargo también podemos observar células de color rosado a rojo similares a las células parietales aunque las mismas se encuentran en menor número.

La figura 3 muestra la región distal o pilórica, en ella se puede apreciar una túnica mucosa compuesta por un epitelio de tipo cilíndrico simple. La lámina propia se destaca por presentar tejido conectivo laxo y glándulas tubulares simples. Estas glándulas presentan células mucosas del cuello y células acidófilas en abundante cantidad y escasa células basófilas similares a las células principales del estómago de mamífero. La muscular de la mucosa se halla dispuesta en dos capas de tejido muscular liso. Por debajo de esta se encuentra la túnica submucosa de tejido conectivo denso con vasos sanguíneos y plexos nerviosos. La túnica muscular se dispone en una capa muscular circular interna y una longitudinal externa ambas de tejido muscular liso. La serosa se observa como una delgada capa compuesta por tejido conectivo y un mesotelio.

Las glándulas gástricas de la región distal o pilórica del estómago en la figura 4 se caracterizan, a mayor aumento, por la presencia de células mucosas del cuello. En esta región se destaca la presencia de células con forma poliédrica y núcleo ubicado en la región basal teñidas intensamente de color rosado, las mismas se encuentran en gran cantidad que recuerdan a las células parietales. Otro tipo celular puede observarse en menor cantidad teñidas de color violeta claro, cuyas características morfológicas se corresponden a descripciones para células principales realizadas en estómago de mamífero.

La figura 5 muestra la inmunopresión de una célula productora de gastrina en estómago, región proximal. La célula G se observa en el epitelio glandular, con forma triangular, tipo cerrada con núcleo basal redondo, el cual se muestra poco teñido. Los gránulos se presentan distribuidos en forma semilunar alrededor del núcleo algunos se observan intensamente teñidos.

DISCUSIÓN

En este estudio la arquitectura del órgano de esta especie animal presenta patrones similares a los descritos tanto en humanos (Ross y Pawlina, 2012) y como así también en otras especies animales (Gázquez Ortiz y Blanco Rodríguez, 2004), el estomago de *Tupinambis merianae* presenta las cuatro tunicas básicas del aparato digestivo.

La túnica mucosa se observa de manera similar a la descrita en cocodrilos tal como lo menciona Ahmed *et al.*, 2009, en el cual, la morfología de la células de las glándulas gástricas presentan cambios morfológicos desde la región proximal a distal de la mucosa del órgano, a diferencia del *Varanus niloticus*, en el cual se describe un solo tipo celular presente en las glándulas gástricas (Ahmed *et al.*, 2009; Elliot, 2007). Nuestros estudios revelaron en coincidencia con dichos investigadores que las células mucosas del cuello se encuentran a lo largo de toda la mucosa del estómago mientras que las oxintico-pépticas van variando tanto la intensidad de tinción como su distribución de acuerdo a las diferentes zonas del estómago.

Mientras que las células basófilas se encuentran en mayor cantidad en la zona fundica o proximal, las acidófilas lo hacen en la zona distal. Las células basófilas en nuestro estudio presentaron características similares a las células principales descritas en humanos (Ross y Pawlina, 2012). Por su parte, las células acidófilas se evidenciaron en mayor cantidad en la zona distal o fundica, las mismas se apreciaron con características similares a las descritas para células parietales, de forma más o menos triangular, con su base apoyada en la lámina basal y el vértice dispuesto hacia la luz glandular. El núcleo es presentó forma esferoidal y el citoplasma teñido con eosina, fácilmente distinguibles al microscopio óptico, tal como las describe Geneser, 2000 en humanos.

Las células enteroendocrinas G productoras de gastrina, se estudiaron en las distintas zonas del estomago aplicando la técnica inmunohistoquímica. La detección de células G productoras de gastrina se realizó de acuerdo a lo propuesto por Gázquez Ortiz and Blanco Rodríguez, 2004. Los mismos hacen referencia a las células endocrinas del estómago, sin precisar especie animal alguna, como aquellas que se localizan en la base de las glándulas fúndicas en contacto con la membrana basal no siendo observables con las tinciones de rutina de laboratorio. Las células G en el presente trabajo se estudiaron aplicando la técnica inmunohistoquímica, siguiendo el protocolo establecido por Ravi R, en 1998

En las diferentes muestras examinadas de iguana overa a las que se les practicó la tinción de Hematoxilina/Eosina, la identificación de células enteroendocrinas G resultó difícil de observar. Esto coincide con lo mencionado en algunas citas bibliográficas relacionadas con humanos (UCGS, 2007) y animales domésticos (Gázquez Ortiz, *et al.*,

2004). Sobre el particular, Ross *et al.*, 2005, atribuyen esta dificultad a la escasez de RNA y membranas, lo cual imprime a la célula una escasa basofilia y acidofilia respectivamente, que se traduce en la consecuencia mencionada precedentemente. Desde el punto de vista morfológico, en individuos adultos de diferentes especies, se describen formas celular que varían de redonda a piramidal en humanos (UCGS, 2007; Ross y Pawlina, 2012); redonda, ovalada, de huso y triangular en caballos adultos (Ceccarelli et al., 1995); piramidal en otras especies domésticas y salvajes (Kitamura et al., 1990; Ceccarelli et al., 1995); y células de formas redondeadas y piramidales en fetos de caballo (Dauría, 2011).

En este estudio preliminar las células G observadas en nuestro trabajo presentaron las características típicas de una célula de secreción endocrina. Se encontraron células G tanto en la región fundica como pilórica. Las mismas se hallaron tanto en el epitelio glandular como en el epitelio de revestimiento, además en tejido conectivo interglandular. Las formas observadas se presentaron en algunos casos piramidales, en otros se apreciaron redondas, los núcleos se presentaron redondos y alargados respectivamente ubicándose, los primeros en la porción central de la célula, y los segundos en la parte basal de la misma, esto concuerda con lo observado por otros investigadores en otras especies animales (Kitamura et al., 1990; Ceccarelli et al., 1995; Dauría, 2011).

Por otro lado, la distribución de los gránulos en las células con inmunomarcación positiva, en las muestras estudiadas, mostró cierta variación ya que aquéllos no sólo se ubicaron en la parte basal de la célula, como habitualmente se describen en algunas especies animales (Gázquez Ortiz y Blanco Rodriguez; 2004); sino también se localizaron en otras áreas de la superficie celular coincidiendo con estudios realizados en fetos de caballo por Dauria, en 2011.

CONCLUSIONES

En este estudio preliminar a través de la técnica histológica convencional de hematoxilina/eosina, se logró determinar la arquitectura del estómago de de iguana overa (*Tupinambis merianae*) el cual presenta las cuatro tunicas básicas del aparato digestivo. Histológicamente, el mismo presenta dos zonas o regiones: una proximal o fundica y una zona distal o pilórica, lo cual, en ciertos aspectos, guarda similitud con lo descrito en otros reptiles. Con la técnica de inmunohistoquímica se determinó la presencia de células G tanto en la zona fundica como pilórica. Las mismas se encontraron entre las células epiteliales de revestimiento, en la glándula gástrica y en el tejido conectivo interglandular.

Las formas halladas fueron similares a las descritas en mamíferos.

BIBLIOGRAFÍA

1-AHMED,Y. EL-HAFEZ, A. ZAYED A. (2009).Histological and histochemical studies on the esofhagus, stomach and small intestines of varanus niloticus. J. Vet. Anat. 2(1):35-48.

2-BADIA, L. RUIZ, F. GONZALES, C. (2009). "Técnicas en Histología y Biología Celular". Elsevier España, S.L

3-BOLKOVIC,M.L y RAMADORI, D. (2006). "Manejo de Fauna Silvestre en la Argentina. Programa de uso sustentable" Dirección de Fauna Silvestre, Secretaria de Ambiente y Desarrollo Sustentable, Buenos Aires. 168 pags + 8 ilustr.

4-BRIZUELA S. y ALBINO A. (2010). "Variaciones Dentarias en *Tupinambis Merianae* (SQUAMATA: TEIIDAE)". Cuad. herpetol., 24 (1): 5-16.

5-CECCARELLI, P. PEDINI, V. y GARGIULO, A. (1995).The endocrine cells in the gastro-enteric tract of adult fallow deer (Dama dama L.). Anat. Histol. Embryol. Blackwell WissenschaftsVerlag.Berlín.24,171-174.

6-DAURIA, P. CASTAGNINO, R. MAC LOUGHLIN, V. SONA, BONINOS, F. (2012). "Identificación inmunohistoquímica de motilina en duodeno de fetos de caballo en diferentes etapas del desarrollo.

7-ELLIOT, J.R. (2007). "Overview of Reptile Biology, Anatomy, and Histology. Infectious Diseases and Pathology of Reptiles" Brooklyn,New York, Taylor y Francis Group:1-25.

8-GAZQUEZ ORTIZ A y BLANCO RODRIGUEZ A. (2004). Tratado de Histología Veterinaria. Editorial Masson, S.A, 1º edición. cap.11:260-279.

9-GENESER, F. (2000). Histología. 3º edición . Ed panamericana, cap 18, pp 488-497.

10-HOLMGREN, S. y NILSSON, S. (1993) "Bombesin, gastrin/CCK, neurotensin, somastotatin and VIP immunoreactivity in the gut of elasmobranch, *Squalus acanthias*. Cell Tissue Res. 234(3): 595-618.

11-JIMENEZ PIÑOL, F.; ESTEVEZ PANIAGUA,M.; PRATO SALVADOR J y AVILA ARCINIEGAS F. "Hormonas- Neuropeptidos Gastrointestinales". Esta disponible en

http://www.hvil.sld.cu/bvs/archivos/250_hormonas%20neuropeptidos%20gastrointestinales%20.pdf

12- KRAUSE, W. YAMADAJ, J. y CUTTS, H. (1985). "Quantitative distribution of enteroendocrine cells in the gastrointestinal tract of the adult opossum, *Didelphis virginiana*." *J. Anat* 140(4): 591-605.

13- KITAMURA, N., YAMADA, J., YAMASHITA, T. y MISU, M. (1982b). Endocrine cells in the gastrointestinal tract of the cat as revealed by various staining methods." *Nippon Juigaku Zasshi* 44(3): 427-31.

14- LACAVE MARTIN, I, (1978). "Estudio Histológico Comparado del Intestino delgado en la familia *Lacertidae* (clase reptilia)". Universidad de Sevilla. Tesis doctorales. Disponible en <http://fondosdigitales.us.es/tesis/tesis/1384/estudio-histologico-comparado-del-intestino-delgado-en-la-familia-lacertidae-clase-reptilia/>

15- LILIDO, N. y RAMIREZ, I. (2008). "Hormonas Gastrointestinales (GIH): La regulación hormonal del aparato digestivo de los animales domésticos." *Mundo Pecuario*, IV, Nº 1, 01-14.

16- LUPPA, H. (1977). *Histology of the digestive tract, Biology of the Reptilia*. Gans, C. and Parsons, T. New York, Academic Press. Vol 6: 225-313.

17- MADRID, J. F., BALLESTA, J., PASTOR, L. M. PEREZ, R. y HERNANDEZ, F. (1989). "Distribution of mucins in the mucosa of the digestive tract of reptiles: a histochemical study." *Acta Histochem* 85(2):117-29.

18- RAVI, R. (1998). Induction of gastrin releasing peptide by all-trans retinoic acid in small cell lung cancer cells. *Oncol. Rep*, 5: 497-501.

19- RELLING, A, y MATTIOLI, G. (2010). "Hormonas gastrointestinales, su rol en la producción animal." *Revista Argentina de Producción Animal* vol30 (2):199-210

20- ROSS M y PAWLINA W. (2012). *Histología "Texto y Atlas color con Biología celular"*. 5ª edición. Editorial Panamericana, Cap. 16: 518-661.

21-TORRES GALAN, J.(1995) "Estudio inmunocitoquímico de la gastrina en el perro. Determinación de sus variaciones fisiológicas en suero mediante radioinmunoensayo". Universidad complutense de Madrid. Facultad de veterinaria.

22- UCSG -Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. (2007). Sistema endocrino: célula endocrina y especialización tisular disponible en:<http://www.bibli/2007/inernet/histolog/c3/ada/estructura/celu.htm>. [on line],

23-YOSHIDA,K; IWANAGA, T y FUJITA,T. (1993) Gastro-entero-pancreatic (GEP) endocrine system of the flatfish *Paralichthys olivaceus* : an inmunocytochemical study. Arch. Histology Japonica. 46 (2): 259-266.

ANEXOS



Figura 1- Microfotografía de la región proximal o región fundica del estómago. E: epitelio. LP: lámina propia. GG: glándula gástrica. MM: muscular de la mucosa. SM: túnica submucosa. M: túnica muscular. Tinción hematoxilina /eosina. 10x.



Figura 2- Microfotografía de la región proximal o región fundica del estómago. E: epitelio. *(flecha)*Célula mucosa del cuello. *(flecha)*célula acidófila. *(flecha)*célula basófila. Tinción hematoxilina /eosina.40x.



Figura 3- Microfotografía de la región distal o región pilórica del estómago. E: epitelio. LP: lámina propia. GG: glándula gástrica. MM: muscular de la mucosa. SM: túnica submucosa. M: túnica muscular. S: serosa. Tinción hematoxilina /eosina.10x.

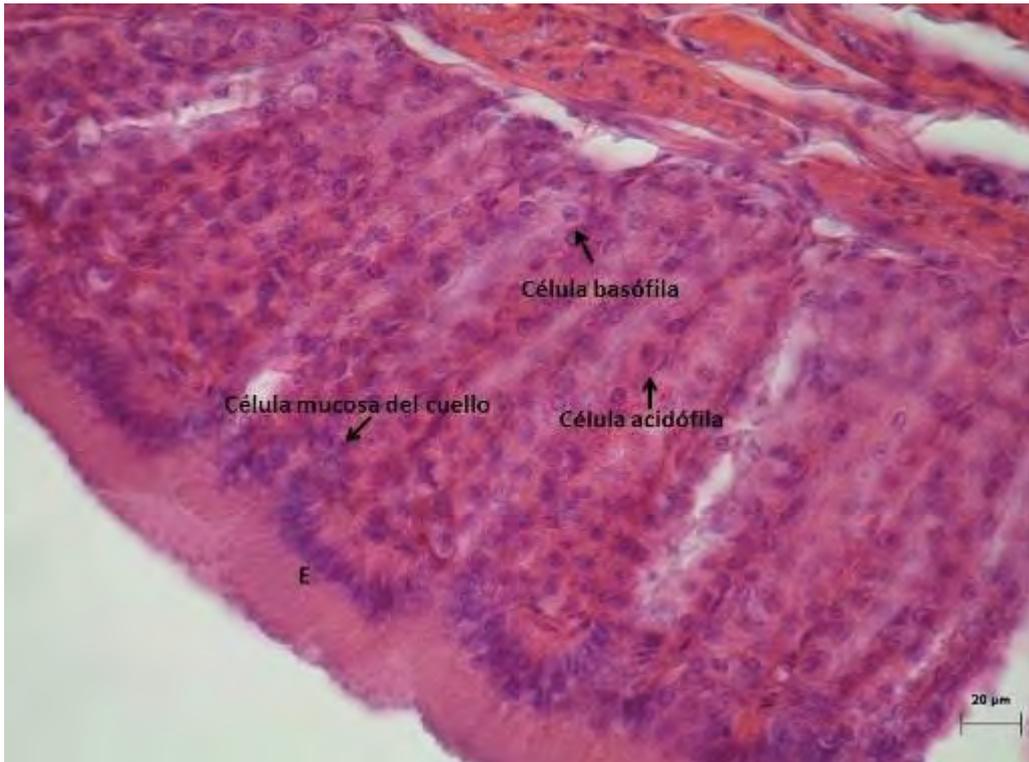


Figura 4- Microfotografía de la región distal o región pilórica del estómago. E: epitelio. (*flecha*)Célula mucosa del cuello. (*flecha*)célula acidófila. (*flecha*) célula basófila. Tinción hematoxilina /eosina. 40x.

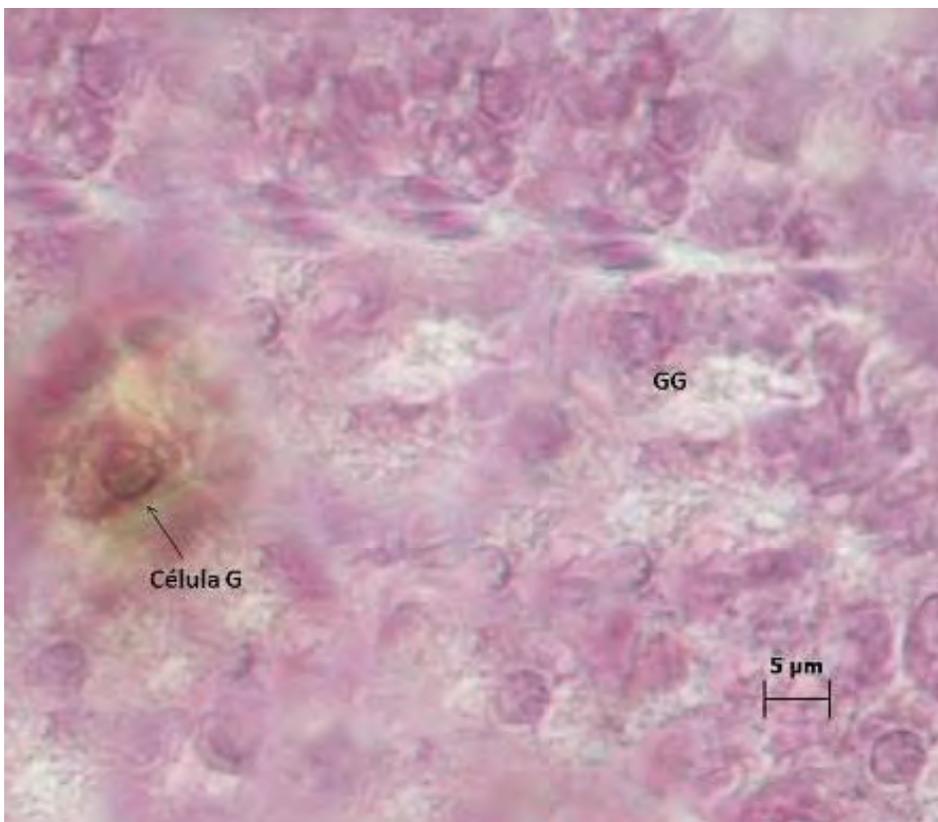


Figura 5. Inmunoexpresión de célula productora de gastrina en estómago de iguana overa. (*flecha*) Célula G. GG: Glándula gástrica. 100x.