



Universidad
Nacional
de Loja

Universidad Nacional de Loja

Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables

Carrera de Medicina Veterinaria

Estudio del efecto del tamaño de partículas de la dieta en las características histoquímicas de las células caliciformes intestinales de los cuyes

Trabajo de Integración
Curricular, previo a la obtención
del título de Médica Veterinaria.

AUTORA:

Sara Abigail Samaniego Yaguache

DIRECTOR:

Dr. Rodrigo Medardo Abad Guamán PhD.

Loja – Ecuador

2023

Certificación

Loja, 22 de agosto del 2023

Dr. Rodrigo Medardo Abad Guamán PhD

DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

C E R T I F I C O:

Que he revisado y orientado todo el proceso de elaboración del Trabajo de Integración Curricular denominado: **Estudio del efecto del tamaño de partículas de la dieta en las características histoquímicas de las células caliciformes intestinales de los cuyes**, de autoría de la estudiante **Sara Abigail Samaniego Yaguache**, con **cédula de identidad Nro. 2350913709** previo a la obtención del título de **Médica Veterinaria**, una vez que el trabajo cumple con todos los requisitos exigidos por la Universidad Nacional de Loja, para el efecto, autorizo la presentación del mismo para su respectiva sustentación y defensa.

Dr. Rodrigo Medardo Abad Guamán PhD.

DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Autoría

Yo, **Sara Abigail Samaniego Yaguache**, declaro ser autora del presente Trabajo de Integración Curricular y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido del mismo. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi Trabajo de Integración Curricular, en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.

Firma:



Cédula de identidad: 2350913709

Fecha: 16 de noviembre de 2023

Correo electrónico: sara.samaniego@unl.edu.ec

Teléfono: 0984088118

Carta de autorización por parte de la autora, para consulta, reproducción parcial o total y/o publicación electrónica del texto completo del Trabajo de Integración Curricular

Yo, **Sara Abigail Samaniego Yaguache**, declaro ser autora del Trabajo de Integración Curricular denominado: **Estudio del efecto del tamaño de partículas de la dieta en las características histoquímicas de las células caliciformes intestinales de los cuyes**, como requisito para optar el título de **Médica Veterinaria**, autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del Trabajo de Integración Curricular que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, suscribo, en la ciudad de Loja, a los dieciséis días del mes de noviembre de dos mil veintitrés.

Firma:



Autora: Sara Abigail Samaniego Yaguache

Cédula: 2350913709

Dirección: Puyango

Correo electrónico: sara.samaniego@unl.edu.ec

Teléfono: 0984088118

DATOS COMPLEMENTARIOS:

Director del Trabajo de Integración Curricular: Dr. Rodrigo Medardo Abad Guamán PhD

Dedicatoria

El presente Trabajo de Integración Curricular está dedicado a mis padres, Jaime Samaniego y Doris Yaguache, quienes me han apoyado a lo largo de mi carrera universitaria.

Madre, este trabajo te lo dedico principalmente a ti, siempre me has apoyado, guiado, aconsejado y brindado tu amor. Eres mi pilar fundamental para vivir. Dedico todos mis logros y éxitos a ti, por tu sacrificio y dedicación a formarme como una excelente persona, con todos los valores que alguien debe poseer y lograr obtener mi título universitario.

A mi tía Ruth, considerada como mi hermana mayor, quien confió en mí, nunca dudó de mis capacidades y siempre me animó a cumplir este logro de ser veterinaria.

A mis abuelitos, Miguel, Porfirio, Orfa y Rosario, a mis tíos Cristian, Jimmy, John, Jairo, Asdrual y Paul quienes me brindaron su apoyo en situaciones difíciles y supieron aconsejarme.

A mis hermanos, Amelia y Eidan, quienes han sido mi inspiración para superarme académica y profesionalmente.

A mi pareja, Juan y a sus padres, Maritza y Dennys, quienes en la lejanía de mi familia siempre estuvieron prestos a ayudarme durante el desarrollo de este trabajo.

A mis mejores amigas, Melany y Bethy, quienes siempre me alentaron a seguir adelante y culminar con esta etapa de mi vida.

A mi padrastro, Wellington, quien siempre me aconsejó y ayudó cuanto pudo en este trayecto.

Finalmente, a mis amigos, quienes me brindaron su apoyo durante mi carrera universitaria y aportaron su granito de arena para conseguir esta meta.

Sara Abigail Samaniego Yaguache

Agradecimiento

En primer lugar, agradezco a Dios, por guiar mi camino, protegerme y permitirme cumplir esta meta y enorgullecer a mis padres y a mi familia.

De manera particular agradezco a quienes me permitieron conseguir este título:

A la Universidad Nacional de Loja y a la Carrera de Medicina Veterinaria, por permitirme recibido y permitido formarme profesionalmente.

A mi director del Trabajo de Integración Curricular, Dr. Rodrigo Medardo Abad Guamán PhD., por orientarme y guiarme durante el desarrollo de este trabajo.

A CIDiNA, por haberme permitido ser partícipe de uno de sus proyectos. Adicionalmente, agradezco de manera muy especial a la Dra. Rocío Herrera, quien supo guiarme durante la fase de campo y me ayudó durante algunos inconvenientes en la fase de laboratorio y a la Ing. Beatriz Guerrero, quien a pesar de los percances siempre me prestó su ayuda y guía profesional.

A mi docente de esta materia, Dra. Martha Reyes, quien me ayudó en la redacción y elaboración de este trabajo.

A todos los docentes de la carrera, quienes me brindaron su conocimiento y fueron piezas fundamentales durante mi formación académica.

A los profesionales, Dr. Darwin Robles, Dr. Alex Jaramillo y Dr. Cesar Chumbi, por haberme permitido realizar mis prácticas pre profesionales en sus establecimientos y enseñarme a sobrellevar esta noble profesión.

A mis padres, Doris y Jaime. Aún más a mi madre, Doris Yaguache, por haberme apoyado emocional y económicamente en estos años de estudio.

A mis hermanos, Eidan y Amelia, quienes a su corta edad me daban mensajes de aliento y alegraban mis días a la distancia.

A mis abuelitos y mis tíos, por apoyarme y ayudarme a sobrellevar mi vida en tierras lejanas. Especialmente a mis tíos Cristian, Jimmy y Ruth, quienes siempre estuvieron presto a darme una mano en situaciones difíciles.

Finalmente, a mi pareja, a mis amigos y demás familiares, por su amor y cariño incondicional.

Sara Abigail Samaniego Yaguache

Índice de contenidos

Portada	i
Certificación	ii
Autoría	iii
Carta de autorización	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Índice de contenidos	vii
Índice de tablas	ix
Índice de figuras	x
Índice de anexos	xi
1. Título	1
2. Resumen	2
Abstract.....	3
3. Introducción	4
4. Marco Teórico	6
4.1. Anatomía Digestiva	6
4.2. Mucosa Intestinal.....	6
4.2.1. <i>Histoquímica Intestinal</i>	8
4.3. Alimentación del Cuy	10
4.4. Fibra.....	11
4.5. Tamaño de Partículas de la Dieta	11
4.5.1. <i>Métodos para la Determinación del Tamaño de Partículas de la Dieta</i>	12
5. Metodología	13
5.1. Área de Estudio	13
5.2. Animales e Instalaciones	13
5.3. Dietas Experimentales	13

5.4.	Determinación de las Características Histoquímicas de las Células Caliciformes....	15
5.5.	Análisis Químico	16
5.6.	Análisis Estadístico.....	16
6.	Resultados	17
7.	Discusión.....	20
8.	Conclusiones.....	23
9.	Recomendaciones.....	24
10.	Bibliografía.....	25
11.	Anexos.....	31

Índice de tablas:

Tabla 1. Ingredientes y composición química de las dietas experimentales (diferentes tamaños de partícula).	14
Tabla 2. Tamaño de partícula de las dietas experimentales.	15
Tabla 3. Número de células caliciformes según las variables de la investigación en dietas con diferentes tamaños de partícula.	17

Índice de figuras:

Figura 1. Imagen satelital de CIDiNA usando Google Earth. Coordenadas 4°02'18"S 79°12'34"W.	13
Figura 2. Distribución de células caliciformes (flechas negras) en vellosidades intestinales ante los diferentes tamaños de partícula.	18
Figura 3. Distribución de células caliciformes en criptas ante los diferentes tamaños de partícula.....	19

Índice de anexos:

Anexo 1.	Elaboración del balanceado.....	31
Anexo 2.	Adición de Vitamina C por cada kilogramo de alimento en las dietas.	31
Anexo 3.	Limpieza y adecuación del galpón.	32
Anexo 4.	Ubicación de los cuyes en las jaulas.	32
Anexo 5.	Sacrificio y evisceración de los cuyes.....	33
Anexo 6.	Toma y envío de la muestra de yeyuno de los cuyes.	33
Anexo 7.	Lectura y conteo de células caliciformes de las placas.	34
Anexo 8.	Muestra de cada tratamiento de la muestra de post-destete.	34
Anexo 9.	Colocación de las muestras de cada dieta en los matraces a movimiento constante durante toda la noche.	34
Anexo 10.	Pesaje del detergente neutro para realizar la solución con agua destilada.	35
Anexo 11.	Tamizaje vía húmeda de los tratamientos.	35
Anexo 12.	Escurrecimiento del rechazo/sobrante de los tamices.....	35
Anexo 13.	Pesaje de los tamices con el sobrante.....	36
Anexo 14.	Pesaje de crisoles con la muestra húmeda y ubicación en la estufa para obtener materia seca.....	36
Anexo 15.	Grupo de trabajo.....	36
Anexo 16.	Certificado de traducción del resumen.....	37

1. Título

Estudio del efecto del tamaño de partículas de la dieta en las características histoquímicas de las células caliciformes intestinales de los cuyes.

2. Resumen

La producción de cuy en nuestro país es abundante, por ello, se busca mejorar las técnicas de manejo y alimentación para mejorar los parámetros productivos y la salud intestinal de los animales. A partir de ello, se evaluó el efecto del tamaño de las partículas de la dieta en las características histoquímicas de las células caliciformes intestinales de los cuyes, mediante la selección de 30 cuyes hembras, tipo A1 de 15 días de vida destetados y de forma aleatoria se los ubicó en tres grupos experimentales de 10 animales cada uno. Se aplicaron tres dietas experimentales con diferentes tamaños de partícula, el grupo 1 tuvo una alimentación con partículas finas, para el grupo 2 la partícula fue mediana y para el grupo 3 la dieta contenía partículas gruesas. Los cuyes fueron alimentados durante 10 días, luego fueron sacrificados y se tomó una muestra de intestino medio (yeyuno) de cada uno para su respectivo procesamiento y tinción. Obtenidas las tinciones se realizó conteo de células caliciformes presentes en vellosidades y criptas intestinales, a partir de la tinción de PAS – Periodic Acid Schiff se cuantificó las células caliciformes con mucinas neutras, con la tinción 1% Alcian blue, pH 2.5 aquellas con mucina ácida y con la tinción 1% Alcian blue, pH 1 las que contenían sulfomucinas. Se registró que a medida que disminuye la partícula, se produce un aumento en la concentración de células caliciformes productoras de mucina neutra ($p=0,022$) y una tendencia a aumentar en las secretoras de mucina ácida ($p=0.068$) ambas a nivel de las vellosidades en cuyes alimentados con una dieta compuesta de partículas finas en relación a los alimentados con partículas medianas y gruesas. Por tanto, se concluye que el tamaño de partículas de la dieta influye en las características histoquímicas de las células caliciformes intestinales de los cuyes.

Palabras clave: *cuyes, células caliciformes intestinales, mucinas, tamaño de partículas, vellosidades, criptas.*

Abstract

The production of guinea pig in our country is abundant, therefore, we seek to improve management and feeding techniques to improve the productive parameters and the health of the animals. From this, the effect of the size of the dietary particles on the histochemical characteristics of the intestinal goblet cells of the guinea pigs was evaluated, by selecting 30 female guinea pigs, type A1, 15 days old, weaned and randomly. They were placed in three experimental groups of 10 animals each. Three experimental diets with different particle sizes were applied, group 1 had a diet with fine particles, for group 2 the particle was medium and for group 3 the diet contained coarse particles greater. The guinea pigs were fed for 10 days, then they were sacrificed and a sample of the midgut (jejunum) was taken from each one for their respective processing and staining. Once the stains were obtained, the goblet cells present in villi and intestinal crypts were counted. From the PAS – Periodic Acid Schiff stain, the goblet cells with neutral mucins were quantified, with the 1% Alcian blue stain, pH 2.5, those with acidic mucin, and with the 1% Alcian blue stain, pH 1 those that contained sulfomucins. The results were subjected to an analysis of variance using the SAS mixed procedure. It was recorded that as the particle decreases, there is an increase in the concentration of goblet cells that produce neutral mucin ($p=0.022$) and a tendency to increase in those that secrete acidic mucin ($p=0.068$), both at the level of the villi in guinea pigs fed with a diet composed of fine particles in relation to those fed with medium and coarse particles. Therefore, it is concluded that the particle size of the diet influences the histochemical characteristics of the intestinal goblet cells of guinea pigs.

Keywords: *guinea pigs, intestinal goblet cells, mucins, particle size, villi, crypts.*

3. Introducción

El cuy (*Cavia porcellus*) es un animal criado con fines de experimentación y producción de carne. Su máximo rendimiento a nivel mundial se evidencia en América del Sur, África y Asia y en Latinoamérica Perú, Bolivia y Ecuador. En nuestro país, la región Andina encabeza la producción de cuy debido a su alto contenido proteico, bajo costo de producción, rápida reproducción, gran tamaño de la camada y su adaptabilidad a una amplia gama de climas (Remache et al., 2016; Reyes Silva et al., 2021; Sánchez-Macías et al., 2018). La producción de cuyes es la principal fuente de ingresos económicos y de consumo en las familias ecuatorianas, sobre todo en las que se encuentran en el área rural (Avilés et al., 2014; Reyes Silva et al., 2021).

Los requerimientos nutricionales del cuy implican una mayor ingesta de fibra, nutrientes, minerales y vitaminas, ya que principalmente estos le proporcionan energía y mejoran el incremento de su peso y su rentabilidad (Reyes Silva et al., 2021). La base de la alimentación tiende a ser los forrajes, aun así, puede suplementarse con el uso de concentrado o dieta granulada para obtener mayor peso al sacrificio (Sánchez-Macías et al., 2018).

La dieta influye en la salud intestinal, la cual es esencial para mantener y mejorar los procesos de digestión y absorción producidos a nivel del intestino delgado. Así mismo en el funcionamiento celular y mucoso del tracto gastrointestinal (TGI). De esta manera, se ha determinado que la dieta altera la integridad celular por lo que los procesos de lubricación del alimento y protección inmunológica se ven directamente afectados (Al-Saffar y Hameed Nasif, 2019; Chater et al., 2015; Cornick et al., 2015).

No existen estudios centrados en determinar si el tamaño de partículas incide en el número de células caliciformes del epitelio intestinal en cuyes. Sin embargo, si se sabe que la restricción de fibra en la dieta reduce su número y la inclusión de distintos tipos de fibra aumenta su número. Por otro lado, también se conoce que la microbiota y los gérmenes presentes en el intestino afectan el número de las células caliciformes y el tipo de mucina que poseen (Al-Saffar y Hameed Nasif, 2019; Chater et al., 2015; Cornick et al., 2015).

El número de células caliciformes en el epitelio intestinal es importante ya que este tipo de células mantienen la barrera de este epitelio y para ello secretan moco y producen distintos tipos de mucina que mantienen la barrera mucosa, así como también envían

moléculas mensajeras desde el epitelio intestinal hasta las células inmunitarias, facilitando y potenciando la respuesta inmunitaria. Sumado a esto, debido a la integridad del epitelio intestinal, se mejora la digestión y absorción de nutrientes, por lo que se obtienen mejores ganancias de peso (Chende et al., 2022; Gustafsson et al., 2021).

Este estudio se enfoca principalmente en obtener una dieta que potencie el número de células caliciformes del epitelio intestinal ya que esto permitirá aprovechar en mayor medida su capacidad para proteger al organismo frente a distintos patógenos. Asimismo, facilitará la absorción de nutrientes necesarios para los cuyes. De esta manera, el resultado del estudio les facilitará a los productores considerar una nueva perspectiva en la formulación de dietas considerando el tamaño de partícula de la misma, la cual también les ayudará a mejorar el sistema inmunitario y mayor aprovechamiento de nutrientes del alimento, por lo que en base a estas consideraciones tendrán menores costos de producción y mejores ganancias en la crianza de cuyes. En base a esto, se propuso evaluar el efecto del tamaño de las partículas de la dieta en las características histoquímicas de las células caliciformes intestinales de los cuyes y se fijaron los siguientes objetivos específicos:

- Determinar el efecto del tamaño de partículas de las dietas de cuyes en la concentración de mucinas ácidas del epitelio del intestino medio.
- Relacionar el tamaño de partículas de la dieta con la concentración de células caliciformes que producen mucinas neutras del epitelio intestinal.

4. Marco Teórico

4.1. Anatomía Digestiva

El cuy (*Cavia porcellus*) es un monogástrico fermentador postgástrico, su sistema digestivo comienza con la cavidad oral y culmina con el ano. No posee bolsas en las mejillas como los demás roedores, ya que su lengua cubre la mayoría de su cavidad oral y la faringe oral. Su estómago es completamente glandular, en el intestino delgado no se puede diferenciar duodeno (10-12 cm), yeyuno (95 cm) e íleon (10 cm) y posee un ciego grande (70-75 cm). A raíz de esto, el tiempo de vaciado gástrico rodea las 2 h y el cecal es muy lento, por lo que el tránsito gastrointestinal dura al menos 20 h y con la coprofagia alrededor de 60-70 h (Grant, 2014; Hargaden & Singer, 2012; Shomer et al., 2015).

Las diferencias entre los intestinos delgado y grueso radican en la estructura de la mucosa, la digestión y absorción y la inmunidad. La mucosa del intestino delgado está especializada para absorber nutrientes, mientras que la del intestino grueso para evitar la invasión de microorganismos. A su vez, los microorganismos en estas estructuras son esenciales para reglar la función intestinal, sin embargo, su distribución es afectada por la dieta (Tang et al., 2022).

4.2. Mucosa Intestinal

La integridad de la mucosa es esencial para determinar el estado de salud del epitelio intestinal. Así, las vellosidades más altas y gran profundidad de cripta significan viabilidad del epitelio, mientras que las vellosidades cortas y criptas grandes significan malestar en el tractogastrointestinal, que inducen a una mala absorción de nutrientes (Bornaei et al., 2022).

Las enfermedades entéricas son un grave problema, sobre todo en animales destetados, por lo que es esencial buscar alternativas para mejorar la salud intestinal. De esta manera, el sistema digestivo debe absorber los nutrientes de los alimentos y para ello, debe distinguir entre nutrientes y microorganismos patógenos y no patógenos (Fortun-Lamothe & Boullier, 2007).

El intestino delgado tiene varias modificaciones de la mucosa y submucosa, por lo que contiene pliegues circulares, vellosidades y microvellosidades largas y numerosas en duodeno, yeyuno e íleon. Así mismo se evidencia invaginaciones de la mucosa, las cuales se extienden desde las bases de las vellosidades hasta la lámina propia, denominadas criptas de Lieberkühn. Sumado a esto, también está integrado por diferentes tipos de células, tales como las células

caliciformes, las células de Paneth y las células enteroendócrinas, encargadas de regular la protección y función digestiva del epitelio (Chater et al., 2015; Delbaere et al., 2023).

El intestino delgado está estructurado por cuatro capas descritas a continuación:

a) Capa interna o túnica mucosa: Es la más interna a la luz intestinal. Está formada por el epitelio, la lámina propia y la *muscularis mucosae* o muscular de la mucosa. Al trazar un corte longitudinal, la mucosa y submucosa se sitúan encima de esta última por lo que forman los pliegues circulares o válvulas de Kerckring (Ferrufino et al., 1996; Moran & Bedford, 2023).

El epitelio está conformado por las vellosidades, las cuales se forman proyecciones a la superficie intestinal y en la superficie apical se componen de microvellosidades y glicocalix. El epitelio también contiene entre las vellosidades, justo en su base, glándulas tubulares simples denominadas criptas o glándulas de Lieberkuhn, quienes penetran la lámina propia casi en contacto con la muscular y se encargan de contener a las células madre de las células epiteliales de la mucosa: células de absorción, células caliciformes, células de Paneth y células endócrinas (Ferrufino et al., 1996; Illanes et al., 2006).

- **Células de Paneth:** Posen forma piramidal y su ápice apunta al lumen. Contienen lisozimas e inmunoglobulinas y regulan la flora microbiana intestinal por medio de fagocitosis (Ferrufino et al., 1996).

- **Células endócrinas:** Son numerosas y están solas en grupos pequeños discontinuamente, de las que han sido identificadas se conoce que contienen colecistoquinina, secretina, inhibidor gástrico polipéptidico, molitín, enteroglucagón, sustancia P, neurotensina, serotonina y somatostatina (Ferrufino et al., 1996).

- **Células caliciformes:** Mantienen la barrera epitelial intestinal protectora mediante la secreción moco, el cual impide el ingreso de gérmenes y ayuda a la absorción de nutrientes (Chater et al., 2015).

b) Capa submucosa: Es por donde atraviesan capilares y vasos de mayor calibre sanguíneo y linfático, drenando y dando alimento a la mucosa y a la *muscularis mucosae*. También se conoce que la inervación de los intestinos está dada por el plexo de Meissner y el plexo mientérico dispuestos en la submucosa y muscular, respectivamente (Ferrufino et al., 1996).

c) **Capa muscular:** Posee dos bandas musculares, una circular interna y una longitudinal externa. Los vasos sanguíneos, linfáticos y nervios la atraviesan y el plexo mientérico se encuentra aquí (Ferrufino et al., 1996).

d) **Capa serosa:** Es un mesotelio encargado de recubrir una banda de tejido suelto que contiene vasos sanguíneos y nervios.

4.2.1. Histoquímica Intestinal

4.2.1.1. Células Caliciformes.

Las células caliciformes mantienen la barrera epitelial intestinal protectora mediante la secreción moco, el cual impide el ingreso de gérmenes, la secreción de mucinas y la transmisión de moléculas desde el intestino a las células inmunitarias (Chater et al., 2015; Chende et al., 2022; Gustafsson et al., 2021).

Estas células sintetizan unas glicoproteínas llamadas mucinas, las cuales son como un gel mucoso que cubre y protege el epitelio gastrointestinal de agentes químicos, físicos y biológicos. Las glicoproteínas son importantes en cuanto a la inmunidad natural del tracto gastrointestinal, por lo que su secreción está asociada a diferentes condiciones fisiológicas y patológicas (Gadelha Alves et al., 2008; Zapata et al., 2014).

La producción de mucina puede aumentar junto a bacterias comensales para ayudar a mejorar la barrera intestinal, ya que así obstaculizan a los patógenos con la densa capa mucosa formada. Es por ello que después del nacimiento las células caliciformes se desarrollan y maduran como respuesta a los estímulos externos (Duangnum Sawang et al., 2021; Gadelha-Alves et al., 2008; Jha et al., 2019).

La microbiota se encuentra adherida a la mucosa, actuando como organismos comensales y evitando la colonización de organismos patógenos. Dentro de este marco, las mucinas afectan la patogenia de los agentes extraños a nivel entérico. Sin embargo, algunos patógenos son capaces de regular la función de las células caliciformes produciendo cambios en la liberación de mucina, degradación de la mucosa o inducción de cambios en la glicosilación de mucina, por lo que obtienen mayor facilidad para la invasión de tejidos (Cornick et al., 2015).

Las células caliciformes son unicelulares en la su zona apical y tienen un núcleo irregular con base ovalada o triangular. Se diferencian de las células madre del endodermo ubicándose en las criptas y, al madurar, migran a las vellosidades (Mohammad et al., 2020).

En función de lo planteado, el estudio de las funciones inmunitarias de las células caliciformes y las mucinas es esencial para el desarrollo de tratamientos para trastornos intestinales (Cornick et al., 2015; Zapata et al., 2014).

4.2.1.1.1. Mucinas Ácidas.

Este tipo de mucinas se clasifican en sialomucinas (mucinas ácidas no sulfatadas) y sulfomucinas (mucinas ácidas sulfatadas). Las primeras se presentan en mayor cantidad en el sistema respiratorio y el colon, actuando como protectoras y lubricantes. Las segundas en cambio abundan en el tracto respiratorio e intestino como lubricantes y son secretadas por las células caliciformes ubicadas en la superficie de la mucosa intestinal (Cabrera A. & García C., 2010; Chende et al., 2022; Zapata et al., 2014).

Las sialomucinas contienen varios monosacáridos de nueve carbonos con un grupo carboxilo en la posición C1 y están ionizados a un pH fisiológico. Por otro lado, las sulfomucinas contienen un grupo sulfatado que está unido al carbohidrato, siendo significativamente más ácidas que las primeras. Es por ello que el número de células con sulfomucinas depende de la edad y la infección que cursa el animal, considerándose principalmente como mucinas maduras (Cornick et al., 2015; Shiraishi et al., 2009).

En el estudio realizado por Zapata et al. (2014), se menciona que las células caliciformes con este tipo de mucinas disminuyeron al quinto día del postdestete en lechones como una reacción al destete temprano ya que en esta etapa disminuye la altura y área de las vellosidades intestinales y se produce daño epitelial. Sin embargo, del séptimo a décimo día se observó un aumento, por lo que entre los días 9 y 14, el número de células caliciformes ya era normal, ya que transcurrida la fase de adaptación se regenera el epitelio y consecuentemente las células maduran y se ubican en las vellosidades (Zapata et al., 2014).

4.2.1.1.2. Mucinas Neutras.

Son secretadas por las células caliciformes ubicadas en la superficie de la mucosa intestinal y abundan en la superficie luminal del estómago, neutralizan el pH y protegen las mucosas estomacal e intestinal. Estas mucinas contienen monosacáridos de manosa, galactosa y galactosamina (Cabrera & García, 2010; Chende et al., 2022; Shiraishi et al., 2009).

Al contrario de las mucinas ácidas, las mucinas neutras aumentaron al quinto día, lo que se puede relacionar a que son las más distribuidas en el estómago y el intestino delgado después

del nacimiento. Sin embargo, en normalmente su número es inferior al de las mucinas ácidas (Zapata et al., 2014).

4.2.1.2. Métodos para la Determinación de Células Caliciformes.

a. Ácido Peryódico de Schiff (PAS)

Según el manual de Prophet et al. (1995), al observar los resultados, el glucógeno, la mucina y algunas membranas basales se ven de color rojo a púrpura, los hongos de rojo a púrpura y los núcleos de azul.

b. 1% Alcian Blue pH 2.5

Según el manual de Prophet et al. (1995) al observar los resultados, las mucinas sulfatadas ácidas débiles, ácido hialurónico y mucina salivar se verán de color azul oscuro, los núcleos de rojo a rosado y el citoplasma rosa pálido. En el caso de la tinción de células caliciformes con mucinas sialiladas se produce una coloración azul oscuro (Meyerholz et al., 2009).

c. 1% Alcian Blue pH 1

Según el manual de Prophet et al. (1995), al observar los resultados, las mucinas sulfatadas se ven de color azul oscuro (Meyerholz et al., 2009).

4.3. Alimentación del Cuy

El cuy es un animal monogástricos herbívoro capaz de aprovechar el forraje acorde a sus necesidades. No existe complejidad en la alimentación del cuy ya que puede alimentarse tanto con gramíneas como con leguminosas, y también de residuos agroindustriales y residuos de cocina obteniéndose excelentes resultados. El forraje es la principal fuente de alimentación de los cuyes, por lo que su crianza se les facilita a los productores al no poseer sistemas tecnificados (Andrade-Yucailla et al., 2016; Bonilla Quilumba & Usca Méndez, 2015; Castro-Bedriñana & Chirinos-Peinado, 2021; Sotelo et al., 2018).

Sin embargo, debido a la ausencia de la enzima L-gulonolactona oxidasa, los cobayos al igual que otras especies no pueden sintetizar la vitamina C (ácido ascórbico), por ello en dietas formuladas, se debe suministrar través de la dieta dicha vitamina (Delaney et al., 2018; Shomer et al., 2015).

4.4. Fibra

La fibra dietética hace referencia al conjunto de componentes de origen vegetal de la dieta resistentes a las enzimas digestivas de los no rumiantes, por lo que es el principal sustrato para la fermentación bacteriana en el intestino grueso. Actúa en conjunto con la mucosa y la microbiota, por ello tiene un efecto marcado sobre la estructura, anatomía y función intestinal (Montagne et al., 2003).

La dieta es fundamental para la proliferación y diferenciación de las células caliciformes, por ello, la restricción de fibra dietética produce una reducción en el número de células caliciformes y, por tanto, los diferentes tipos de fibra que se incluyen en la dieta también afectan el número de células caliciformes intestinales, produciéndose una relación directamente proporcional entre ambos (Chater et al., 2015; Duangnum Sawang et al., 2021). De esta manera, por ejemplo, en el estudio de Bornaei et al. (2022), la inclusión de cebada en diferentes niveles produjo el aumento de las células caliciformes intestinales.

4.5. Tamaño de Partículas de la Dieta

La dieta influye en la salud intestinal, impidiendo la proliferación de bacterias patógenas y la alteración de las bacterias que se encuentren en estado saprófito. Por ello, todos los alimentos como forrajes o balanceados deben ser seleccionados con la finalidad de mejorar el epitelio intestinal y evitar la alteración de su estructura (Montagne et al., 2003). En cuanto al efecto del tamaño de partículas de la dieta en la salud intestinal de los animales, en la investigación realizada por Tufarelli et al. (2010), se demostró que, en los conejos, la dieta finamente molida tuvo efectos beneficiosos en la morfología intestinal, generando un aumento en el tamaño de las vellosidades duodenales y en la profundidad de las criptas en el colon. Estos resultados se ven fortalecidos por los datos obtenidos por Desantis et al. (2011), en el cual los conejos alimentados a base de dietas con partículas finas, tuvieron vellosidades más altas y criptas más profundas, así como también un mayor número de células caliciformes que los alimentados con partículas gruesas.

No obstante, en un estudio realizado por Liu et al. (2018) evaluaron el efecto del tamaño de partículas de la fuente de fibra de la dieta y demostraron que menor tamaño de partícula provoca mayor degeneración epitelial, necrosis de células epiteliales e infiltración de células inflamatorias gástricas. Además, Hedemann et al. (2005), en su estudio mencionan que, en dietas granuladas o gruesas, el área de sialomucinas en vellosidades y criptas era mayor que en las dietas molidas, así como también de mucinas neutras, aunque estas solo en vellosidades. Sin

embargo, en el caso de sulfomucinas se obtuvo mayor número en vellosidades con las dietas finas en relación a las gruesas.

4.5.1. Métodos para la Determinación del Tamaño de Partículas de la Dieta

La determinación del tamaño de partículas de la dieta se realiza mediante la utilización de una pila de tamices de distinto tamaño de poro, de modo que los de mayor tamaño van en la parte superior, se mantienen en movimiento constante y al transcurrir cierto tiempo, se obtiene un cernido y un rechazo de la distribución de tamaños de partícula, conociéndose como análisis mecánico. Este análisis se puede utilizar en medio seco o en medio húmedo descritos a continuación (Luna Méndez, 2016).

4.5.1.1. Análisis en Medio Seco.

En este tipo de análisis se puede utilizar muestras menores de 3,2 mm. Para este procedimiento la muestra debe haber sido tamizada por el tamiz de 2 o 3 mm, y medida durante su caída libre, es decir, que se conocen los tamaños de partículas individuales dispersas, así como también el de posibles microagregados (<76 μm) y macroagregados existentes (2000-194 μm) (Pastor & Villoslada, 2010).

4.5.1.2. Análisis en Medio Húmedo.

Este tipo de análisis amerita la utilización de muestras tamizadas por 3 mm y por lo general se usa cuando el tamaño de la muestra es muy pequeño o cuando se trata de un medio acuoso. En el caso del estudio de los suelos, esta es a técnica más utilizada para determinar la granulometría (Pastor & Villoslada, 2010).

5. Metodología

5.1. Área de Estudio

El trabajo se llevó a cabo en el Centro de Investigación, Desarrollo e innovación de Nutrición Animal (CIDiNA) de la Carrera de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de Loja ubicado en la "Quinta Experimental Punzara" localizado en la parte Sur-Oeste de la Hoya de Loja a 150 m de la Universidad, con las siguientes condiciones meteorológicas: temperatura 15,9 a 22,6°C, altitud 2 201 m, precipitación media anual de 906,9 mm, humedad relativa media mensual de 74,5 % y una formación ecológica de bosque seco Montano Bajo.



Figura 1. Imagen satelital de CIDiNA usando Google Earth. Coordenadas 4°02'18"S 79°12'34"W.

5.2. Animales e Instalaciones

Se seleccionaron 30 cuyes hembras (*Cavia porcellus*), tipo A1 de 15 días de vida de 344 g promedio y de forma aleatoria se los ubicó en tres grupos experimentales de 10 animales cada uno. Los animales fueron situados en jaulas, las cuales representaron una unidad experimental cada una y fueron identificadas con un letrero y el respectivo tratamiento.

Por otro lado, las instalaciones fueron desinfectadas con amonio cuaternario (5 ml por litro de agua), y se adecuaron 30 jaulas de malla galvanizada con las dimensiones 42 x 26 x 51 cm de largo, ancho y alto respectivamente, con bebederos y comederos en cada una de ellas.

5.3. Dietas Experimentales

Se formularon tres dietas experimentales con los requerimientos nutricionales acorde a NRC (1995), y cada una contenía diferente tamaño de partícula. Los animales tenían acceso *ad libitum* tanto para agua como para comida, y se añadió 2g de vitamina C por kg de alimento.

En la Tabla 1 se presentan los ingredientes y la composición química porcentual tomados en cuenta para la formulación y elaboración de las dietas experimentales.

Tabla 1. Ingredientes y composición química de las dietas experimentales (diferentes tamaños de partícula).

Ítem	Tamaño de partícula		
	Fino	Mediano	Grueso
<i>Ingredientes</i>			
Afrecho de trigo	22,93	22,93	22,93
Trigo	7,80	7,80	7,80
Paja de arroz fina	30,74	15,37	
Paja de arroz gruesa		15,37	30,74
Maralfalfa	9,37	9,37	9,37
Soya	16,31	16,31	16,31
Aceite de palma	5,84	5,84	5,84
Melaza	3,75	3,75	3,75
Sal	0,66	0,66	0,66
L-lisina-HCl	0,27	0,27	0,27
DL-metionina	0,19	0,19	0,19
Treonina	0,20	0,20	0,20
Premezcla vitamínico mineral*	0,19	0,19	0,19
Vitamina C	0,04	0,04	0,04
Carbonato de Calcio	1,24	1,24	1,24
Bentonita ²	0,47	0,47	0,47
<i>Composición Química Calculada</i>			
Energía digestible	2800	2800	2800
FDN	40	40	40
Almidón	9,325	9,325	9,325
Lisina	0,80	0,80	0,80
Metionina	0,366	0,366	0,366
Treonina	0,60	0,60	0,60
Calcio	0,80	0,80	0,80
Fósforo total	0,40	0,40	0,40

Nota. *LOFAC premezcla vitamínico mineral, 7 000.000 UI Vitamina A, 1 200.000 UI Vitamina D3, 35. 000 UI Vitamina E, 2 .000 mg Vitamina K3, 1 500 mg Vitamina B1, 3 000 mg Vitamina B2, 2 500 mg Vitamina B6, 20 mg Vitamina B12, 20 000 mg Niacina, 80 mg Biotina, 12 000 mg Ácido pantoténico, 250 mg Ácido fólico, 100 000 mg Colina, 2 000 mg Antioxidante, 25 000 mg Manganeso, 90 000 mg Zinc, 75 000 mg Hierro, 7 000 mg Cobre, 500 mg Yodo, 200 mg Selenio, 2 000 mg Magnesio, 2 000 g Excipiente c.s.p.

². Bentonita 51,35% Silicio; 27,03% Aluminio; 5,83% Hierro; 1,65% Potasio; 1,04% Calcio; 0,77% Magnesio; 0,68% Sodio.

Las dietas experimentales se aplicaron a tres grupos, de esta manera, el grupo 1 tuvo una alimentación con partículas finas, para el grupo 2 la partícula fue mediana, es decir, con la mitad de partículas finas y gruesas, y, para el grupo 3, la dieta contenía partículas gruesas. En la Tabla 2 se detalla con más información el tamaño de partícula de cada tratamiento.

Tabla 2. Tamaño de partícula de las dietas experimentales.

Tamaño de partícula (mm)	Tratamiento		
	Fino	Mediano	Grueso
>1,18	14,095	20,335	17,945
0,500-1,17	28,844	27,634	48,545
0,350-0,499	21,158	22,802	15,490
0,149-0,349	35,903	29,229	18,021
Total	100	100	100

Las proporciones de partículas finas, medianas y gruesas de las dietas se realizó mediante el tamizaje por vía húmeda con tres muestras de cada tratamiento como se menciona en el estudio de García et al. (1999). Para ello se colocó 55g de cada dieta experimental en matraces Erlenmeyer de 2000 ml y posteriormente se añadió 1100 ml de solución de agua destilada y detergente comercial neutro, de modo que las muestras se mantuvieron en agitación a temperatura ambiente durante toda la noche. Al día siguiente a cada tratamiento se le vació el residuo del matraz sobre una pila de tamices con cuatro tamaños de poro decrecientes (1,18 mm, 500 μ m, 350 μ m y 149 μ m) y se lavó con agua destilada durante 40 minutos en total con un flujo de agua 5,95 ml/min, así, al transcurrir 20 minutos se sacó de la pila el primer tamiz de 1,18 mm y se repitió el proceso con los demás tamices 500 μ m, 350 μ m y 149 μ m a los 10, 6 y 4 minutos, respectivamente. Una vez realizado el lavado, se dejó escurrir cada tamiz durante 1 hora y posteriormente se pesó cada uno de ellos. Luego las muestras fueron recolectadas en crisoles y transferidas a la estufa durante 24 horas a 105 °C para la determinación de materia seca.

5.4. Determinación de las Características Histoquímicas de las Células

Caliciformes

Treinta cobayas destetadas, de 15 días de edad fueron ubicados aleatoriamente en las dietas experimentales (10 cuyes/dieta). Habiendo alcanzado los 25 días de edad, los animales fueron sacrificados acorde a las normas bioéticas internacionales de bienestar animal como se establece en el “Código Orgánico del Ambiente” (ROS N.º 983, Ecuador). Se realizó el aturdimiento de los animales por medio de un golpe contundente en la cabeza y posterior

desangramiento. Luego del sacrificio se realizó la evisceración de los animales y se tomó una muestra de 2- 3 cm de la porción media del intestino de cada cuy y se lo fijó en una solución buffer de formol al 10%. Las muestras fueron etiquetadas y enviadas al Laboratorio de Histología.

Obtenidos los resultados de laboratorio se procedió a realizar el conteo de las células caliciformes intestinales según cada tinción a través del microscopio con el lente de 10x. La tinción de PAS – Periodic Acid Schiff permitió visualizar las células caliciformes con mucina neutras (coloración rosa) y las 1% Alcian blue, pH 2.5 y 1% Alcian blue, pH 1 aquellas con mucina ácida y sulfomucinas, respectivamente (coloración azul). Para esto, en cada placa se identificó 30 vellosidades y 30 criptas intestinales y se contabilizó las células caliciformes presentes en estas estructuras.

5.5. Análisis Químico

Las tinciones PAS, 1% Alcian blue pH 2.5 y 1% Alcian blue, pH 1 se realizaron acorde al procedimiento establecido por Prophet et al. (1995).

5.6. Análisis Estadístico

Se realizó un análisis de varianza, utilizando un modelo mixto por medio del procedimiento MIXED de SAS (OnDemand for Academics 2023) tomando como principal factor de variación fijo el tamaño de partícula de la dieta y la variable aleatoria al animal anidado al tratamiento. Se utilizó un T Test protegido para la comparación de medias en el que los p valores < 0,05 se consideraron significativos.

6. Resultados

En la Tabla 3 se describe las variables histológicas que se evaluaron en este trabajo de investigación al incluir diferente tamaño de partículas en la dieta de los cuyes.

Tabla 3. Número de células caliciformes según las variables de la investigación en dietas con diferentes tamaños de partícula.

Variables	Tamaño de partícula			Estándar error	P valor
	Fino	Mediano	Grueso		
Mucinas ácidas					
N células caliciformes/vili	1,95 ^a	1,60 ^{ab}	0,920 ^b	0,301	0,068
N células caliciformes/cripta	7,16	7,75	6,60	0,489	0,270
Sulfomucinas					
N células caliciformes/vili	3,07	3,26	3,09	0,357	0,919
N células caliciformes/cripta	8,44	8,13	8,77	0,570	0,732
Mucinas neutras					
N células caliciformes/vili	2,77 ^a	2,14 ^{ab}	1,59 ^b	0,282	0,022
N células caliciformes/cripta	8,75	10,12	9,18	0,599	0,274

Nota. ^{a,b} Las medias del número de células caliciformes entre los tamaños de partícula son significativamente diferentes.

El número de mucinas ácidas en el tratamiento con tamaño de partícula fino tendió en un 112% el número de células caliciformes/vili respecto a los animales que consumieron el tamaño grueso de partículas ($p=0.068$), mientras que los animales que consumieron la dieta con tamaño de partícula mediano tienen un número intermedio de células caliciformes/vili respecto a los otros dos tratamientos. Por otro lado, a nivel de cripta no se observa diferencia significativa ($p=0,27$) con una concentración media de 7,17 células caliciformes/cripta.

Con respecto a las sulfomucinas no se encuentra diferencia significativa en las células caliciformes a nivel de la velloso ($p=0,919$), ni tampoco a nivel de la cripta ($p=0,732$), las cuales tienen una concentración promedio de células caliciformes de 3,14 y 8,45 respectivamente.

En el caso del número de las mucinas neutras, en el tratamiento con tamaño de partícula fino tendió en un 74% el número de células caliciformes/vili respecto a los animales que consumieron el tamaño grueso de partículas ($p=0,022$), mientras que los animales que consumieron la dieta con tamaño mediano de partícula tiene un número intermedio de células caliciformes/vili. Por último, a nivel de cripta no se observa diferencia significativa ($p=0,274$) con una concentración media de 9,35 células caliciformes/cripta.

En la figura 2 se representa la concentración de las células caliciformes con mucinas ácidas (A), con sulfomucinas (B) y con mucinas neutras (C), ubicadas en las vellosidades intestinales, dependiendo de los diferentes tamaños de partícula en la dieta.

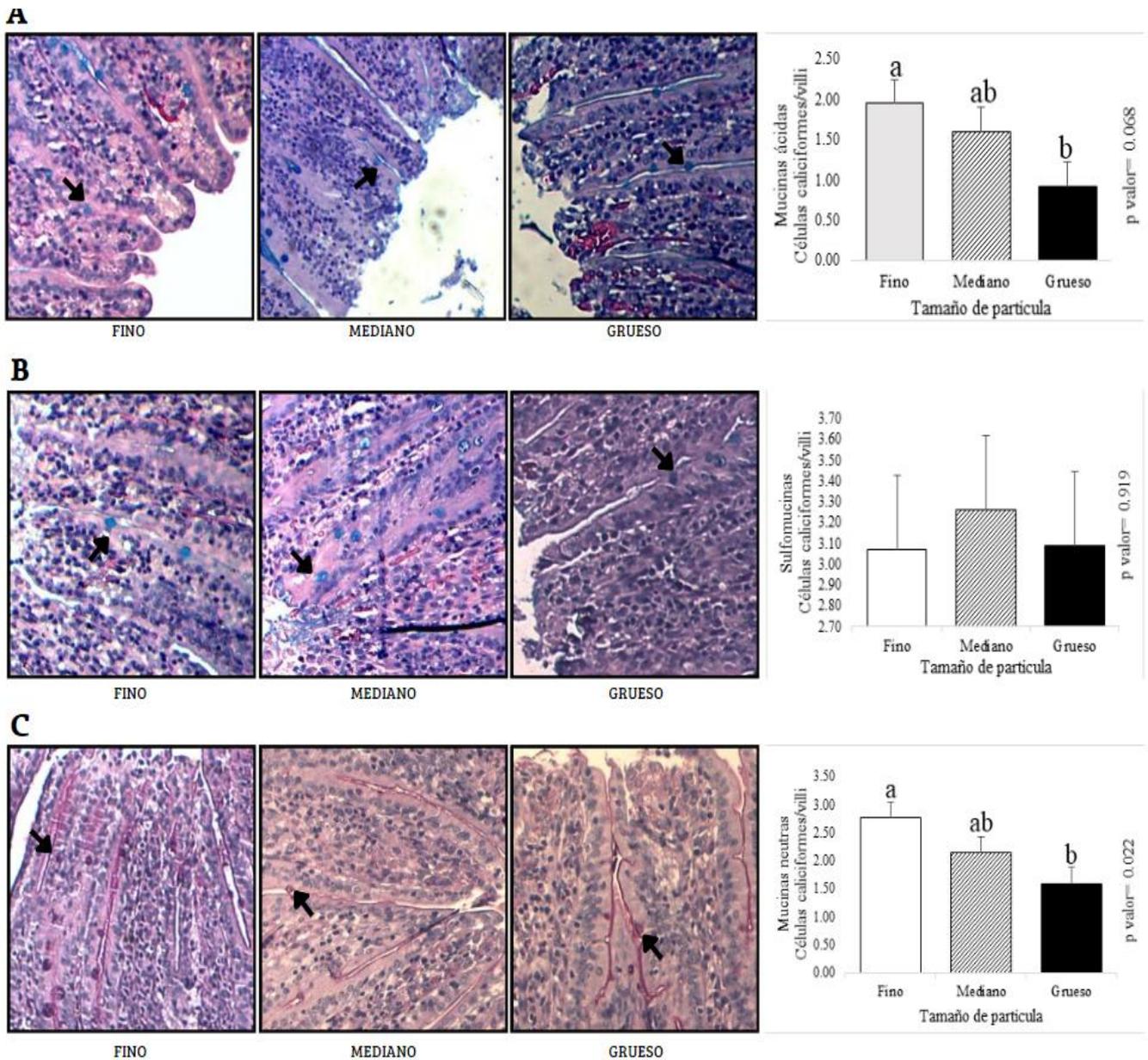


Figura 2. Distribución de células caliciformes (flechas negras) en vellosidades intestinales ante los diferentes tamaños de partícula.

En la figura 3 se representa la concentración de las células caliciformes con mucinas ácidas (A), con sulfomucinas (B) y con mucinas neutras (C), ubicadas en las vellosidades intestinales, dependiendo de los diferentes tamaños de partícula en la dieta.

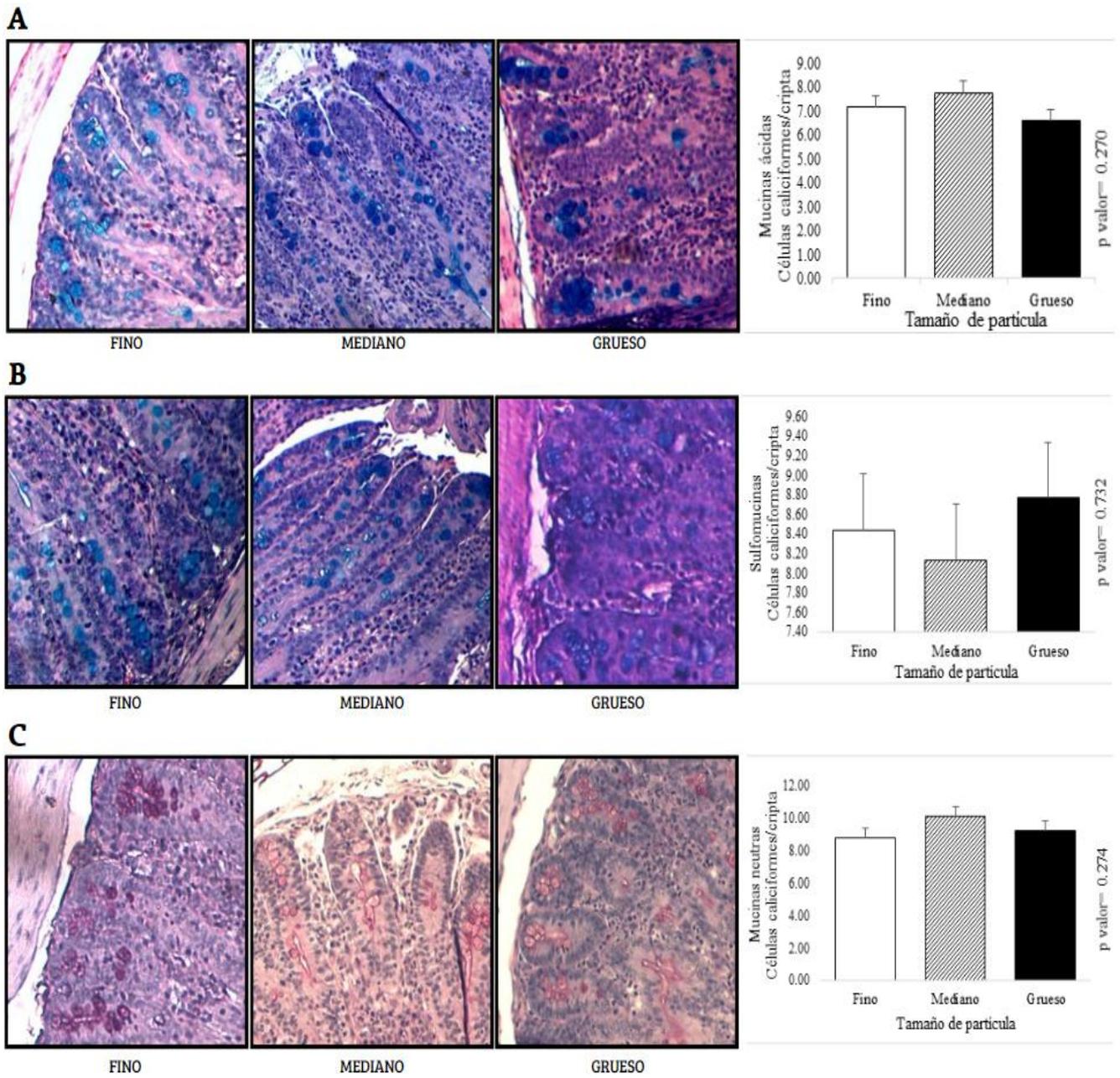


Figura 3. Distribución de células caliciformes en criptas ante los diferentes tamaños de partícula.

7. Discusión

De acuerdo a lo reportado por Manjili et al. (1998), en los primeros 7 días de edad los cuyes presentan mayor concentración de células caliciformes en el intestino delgado a nivel de criptas, con alrededor de 7 a 12 células caliciformes con mucinas ácidas, 7 a 15 con mucinas neutras y de 4 a 7 con sulfomucinas. Por otro lado, en las vellosidades intestinales los autores registraron un número promedio de 5 a 7 células con mucinas ácidas, 10 a 11 con mucinas neutras y aproximadamente 2,5 con sulfomucinas. A partir del octavo día, estas células migran a las vellosidades, por lo que se produce un aumento de estas células en las vellosidades y una disminución en las criptas. Estos datos son similares a los encontrados en el presente estudio, en particular, en lo que respecta al número de células caliciformes en las vellosidades: con sulfomucinas (2,17); y en las criptas intestinales: con mucinas ácidas (7,17), con mucinas neutras (8,45) y con sulfomucinas (9,35).

Investigaciones anteriores realizadas en otras especies, revelan que las dietas con partículas gruesas producen un aumento en la altura de las vellosidades y en la profundidad de criptas del yeyuno, en comparación con las dietas finas. De la misma manera, el número de células caliciformes totales es mayor en los animales alimentados con partículas gruesas y, similar en alimentados con partículas medianas (Amerah et al., 2007; Naderinejad et al., 2016).

Por el contrario, otros estudios documentan que las dietas finamente molidas produjeron un aumento en la altura de las vellosidades y en la profundidad de las criptas del duodeno, ciego y colon, así como también un aumento en el número de células caliciformes con mucinas neutras y sulfatadas en el duodeno, ausencia de mucinas neutras en ciego y mezcla de mucinas ácidas y sulfatadas en el colon distal (Desantis et al., 2011). Con base en estos datos, se puede colegir que el número de células caliciformes podría estar influenciado por la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas intestinales, así como por la integridad del epitelio intestinal (Zapata et al., 2014).

El tracto digestivo alberga una gran cantidad de microorganismos. En el estómago las bacterias son menos abundantes que en el colon, mientras que en el intestino delgado estas bacterias se encuentran en mayor número y entran en contacto con las puntas de las vellosidades (Pelaseyed et al., 2014). De esta forma, la dieta con partículas finas aumenta tanto el tiempo de retención de la digesta en el intestino, provocando un aumento de los microorganismos, así como la producción de metano, debido a la mayor fermentación cecal derivada de la acumulación de partículas pequeñas en el TGI (Laplace et al., 1977; Liu et al., 2018; Romero et al., 2011). Como consecuencia, también se produce un aumento en el número de células

caliciformes ácidas en las vellosidades lo que mejora la protección del sistema gastrointestinal y mantiene el equilibrio de la microbiota,

Por otro lado, un estudio reciente revela que la dieta con partículas finas suministrada a conejos produjo degeneración y necrosis de las células epiteliales de la mucosa e infiltración de células inflamatorias gástricas (Lui et al., 2018). Mientras que en el epitelio intestinal se han reportado cambios principalmente por el destete temprano, tal es el caso del trabajo de Zapata et al. (2014), se encontraron alteraciones en la altura y en el área de las vellosidades, daño epitelial y necrosis, y, por tanto, disminución de las células caliciformes con mucinas ácidas en cerdos.

Los resultados del presente estudio demuestran que se obtuvo mayor concentración de células caliciformes secretoras de mucina ácida y neutra a nivel de las vellosidades en cuyes alimentados con una dieta compuesta de partículas finas, en relación a los animales alimentados con dietas de partículas medianas y gruesas. La dieta con partículas finas y el destete temprano producen un daño en el epitelio durante los primeros días de vida de los animales, siendo probable que estos dos factores hayan incidido en el resultado. La combinación de estos dos factores genera un aumento en la producción de mucinas menos maduras, es decir, de mucinas neutras y disminución de las mucinas ácidas. No obstante, se conoce que al quinto día del post destete se produce un efecto inverso entre estas mucinas en cerdos, proliferan las ácidas y se reducen las neutras, mientras que en las sulfomucinas no se evidencia cambios ya que estas están más relacionadas a procesos avanzados de enfermedades (Lui et al., 2018; Zapata et al., 2014).

Normalmente, el número de células caliciformes con mucinas neutras y sulfatadas es inferior al de mucinas ácidas, principalmente porque las neutras están más relacionadas al desarrollo embrionario y son las primeras en aparecer, mientras que las sulfatadas, al poseer en su cadena un grupo sulfatado son más ácidas y actúan como las principales defensoras ante la proliferación de microorganismos y enfermedades entéricas. Las mucinas ácidas, por el contrario, son esenciales para la lubricación y protección del intestino (Cornick et al., 2015; Shiraishi et al., 2009; Zapata et al., 2014).

En la presente investigación se puede asumir que las partículas pequeñas de la dieta suministrada a los cuyes y el cambio de alimento, provocaron daños en el epitelio intestinal. Como consecuencia, las células caliciformes de ese epitelio que sufrió daños y que estuvo en fase de recuperación al momento de la colecta de las muestras proliferaron, por lo que se encontraron en su mayoría aquellas con mucinas neutras. También es probable que los animales se hayan enfrentado a un desafío de campo que recién había estado iniciando, es por ello que,

en las células con mucinas neutras y ácidas, se observó un aumento en el número a nivel de las vellosidades, mientras que en las sulfomucinas no se evidenciaron cambios significativos ya que son las últimas en aparecer en un proceso de defensa del organismo. Por último, la ubicación de las células caliciformes con mucinas neutras y ácidas en las vellosidades intestinales se debe a que las células caliciformes inmaduras se encuentran en las criptas y posteriormente migran a las puntas de las vellosidades.

8. Conclusiones

- El tamaño de partículas de las dietas de cuyes, en el post-destete, podría tener un efecto regulatorio en las mucinas ácidas en el epitelio intestinal de esta especie. Las partículas finas muestran una tendencia a estimular el aumento en el número de células caliciformes productoras de mucinas ácidas a nivel de las vellosidades intestinales. Es importante destacar que este estímulo no parece afectar a las células caliciformes responsables de la producción de sulfomucinas.
- Los resultados de este estudio permiten concluir sobre la influencia del tamaño de partículas en las dietas de cuyes, en la concentración de células caliciformes productoras de mucinas neutras en las vellosidades del epitelio intestinal. Se observa un impacto con el tamaño de partícula fino de las dietas, evidenciando un aumento sustancial en el número de estas células. Este fenómeno, combinado con la regeneración epitelial inducida por la dieta y posibles desafíos ambientales, contribuye a un fortalecimiento notable de la defensa de la barrera intestinal.

9. Recomendaciones

- El estímulo de las células caliciformes neutras y ácidas revela un aspecto relevante y sugiere adaptaciones significativas en la respuesta inmunológica del intestino de los cuyes. A partir de ello, se recomienda considerar el tamaño de partículas en las formulaciones de dietas para optimizar la salud intestinal y la capacidad defensiva del organismo.

10. Bibliografía

- Amerah, A. M., Ravindran, V., Lentle, R. G., & Thomas, D. G. (2007). Influence of feed particle size and feed form on the performance, energy utilization, digestive tract development, and digesta parameters of broiler starters. *Poultry Science*, 86(12), 2615–2623. doi:10.3382/ps.2007-00212
- Andrade-Yucailla, V., Fuentes, I., Vargas-Burgos, J. C., Lima-Orozco, R., & Jácome, A. (2016). Alimentación de cuyes en crecimiento-ceba a base de gramíneas tropicales adaptadas a la Región Amazónica. *Revista Electronica de Veterinaria*, 17(1).
- Bonilla Quilumba, S., & Usca Méndez, J. (2015). Utilización de diferentes niveles de maíz de desecho con tusa molida más melaza en la alimentación de cuyes. *Revista Ciencia UNEMI*, 8(15), 96-101.
- Bornaei, L., Salari, S., & Erfani majd, N. (2022). Effect of electron beam irradiated barley grains on growth performance, blood parameters, nutrient digestibility, microbial population, and intestinal histomorphometry in broiler chickens. *Journal of Applied Animal Research*, 50(1), 408-419. <https://doi.org/10.1080/09712119.2022.2089151>
- Cabrera, F., & García, G. (2010). Histoquímica de mucinas y lípidos del aparato urinario de la Baba (*Caiman crocodilus crocodilus*). *Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias*, 51(1), 17-26. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-65762010000100003&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Chater, P. I., Wilcox, M. D., Pearson, J. P., & Brownlee, I. A. (2015). The impact of dietary fibres on the physiological processes governing small intestinal digestive processes. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 6(2), 117-132. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2015.09.002>
- Chende, A., Miclaus, V., Damian, A., Martonos, C., Rus, V., Matei-Latiu, M.-C., Latiu, C., & Gal, A. F. (2022). Mucous non-goblet cells in the small intestine of guinea pigs (*Cavia porcellus*): a histological and histochemical study. *Folia Morphologica*. <https://doi.org/10.5603/fm.a2022.0048>
- Cornick, S., Tawiah, A., & Chadee, K. (2015). Roles and regulation of the mucus barrier in the gut. *Tissue Barriers*, 3(1), e982426-1. <https://doi.org/10.4161/21688370.2014.982426>

- Delaney, M. A., Treuting, P. M., & Rothenburger, J. L. (2018). Rodentia. En *Pathology of Wildlife and Zoo Animals* (pp. 499-515). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805306-5.00020-1>
- Delbaere, K., Roegiers, I., Bron, A., Durif, C., Van de Wiele, T., Blanquet-Diot, S., & Marinelli, L. (2023). The small intestine: dining table of host–microbiota meetings. *FEMS Microbiology Reviews*, 47(3). <https://doi.org/10.1093/femsre/fuad022>
- Desantis, S., Zizza, S., Accogli, G., Tufarelli, V., & Laudadio, V. (2011). Morphometric features and glycoconjugate pattern of rabbit intestine are affected by particle size of pelleted diets. *Anatomical Record*, 294(11), 1875-1889. <https://doi.org/10.1002/ar.21477>
- Duangnumswang, Y., Zentek, J., & Goodarzi Boroojeni, F. (2021). Development and Functional Properties of Intestinal Mucus Layer in Poultry. En *Frontiers in Immunology* (Vol. 12). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.745849>
- Ferrufino, J. C., Taxa, L., & Angeles, G. (1996). Histología normal del intestino delgado. *Rev. Med. Hered.*, 7, 46-47.
- Fortun-Lamothe, L., & Boullier, S. (2007). A review on the interactions between gut microflora and digestive mucosal immunity. Possible ways to improve the health of rabbits. *Livestock Science*, 107(1), 1-18. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2006.09.005>
- Gadelha-Alves, R., Melo Da Silva Rozensztranch, A., & Rocha-Barbosa, O. (2008). Comparative Intestinal Histomorphology of Five Species of Phyllostomid Bats (Phyllostomidae, Microchiroptera): Ecomorphological Relations with Alimentary Habits. *Histomorfometría Comparativa de Intestino de Cinco Especies de Murciélagos Phyllostomideos (Phyllostomidae, Microchiroptera): Relaciones Ecomorfológicas con Hábitos Alimentarios*. En *Int. J. Morphol* (Vol. 26, Número 3).
- García, J., Carabaño, R., & de Blas, J. C. (1999). Effect of fiber source on cell wall digestibility and rate of passage in rabbits. *Journal of Animal Science*, 77(4), 898. doi:10.2527/1999.774898x
- Gustafsson, J. K., Davis, J. E., Rappai, T., McDonald, K. G., Kulkarni, D. H., Knoop, K. A., Hogan, S. P., Fitzpatrick, J. A. J., Lencer, W. I., & Newberry, R. D. (2021). Intestinal

goblet cells sample and deliver luminal antigens by regulated endocytic uptake and transcytosis. *eLife*, 10, 1-29. <https://doi.org/10.7554/eLife.67292>

Hargaden, M., & Singer, L. (2012). Anatomy, Physiology, and Behavior. En *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents* (pp. 575-602). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-380920-9.00020-1>

Hedemann, M. S., Mikkelsen, L. L., Naughton, P. J., & Jensen, B. B. (2005). Effect of feed particle size and feed processing on morphological characteristics in the small and large intestine of pigs and on adhesion of *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* DT12 in the ileum in vitro. *Journal of Animal Science*, 83(7), 1554-1562. <https://doi.org/10.2527/2005.8371554x>

Illanes, J, Fertilio, B, Chamblas, M, Leyton, V, & Verdugo, F. (2006). Descripción Histológica de los Diferentes Segmentos del Aparato Digestivo de Avestruz (*Struthio camelus var. domesticus*). *International Journal of Morphology*, 24(2), 205-214. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022006000300015>

Jha, R., Fouhse, J. M., Tiwari, U. P., Li, L., & Willing, B. P. (2019). Dietary fiber and intestinal health of monogastric animals. En *Frontiers in Veterinary Science* (Vol. 6, Número MAR). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00048>

Laplace, J. P., Lebas, F., & Germain, C. (1977). Le transit digestif chez le lapin. VII-Influence de la finesse du broyage des constituants d'un aliment granulé. *Ann. Zootech.*, 26(3), 413-420.

Liu, S., Yuan, M., Jin, D., Wang, Z., Zou, H., Wang, L., Xue, B., Wu, D., Tian, G., Cai, J., Yan, T., & Peng, Q. (2018). Effects of the particle of ground alfalfa hay on the growth performance, methane production and archaeal populations of rabbits. *PLoS ONE*, 13(9), 1-18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203393>

Luna Méndez, E. A. (2016). Elaboración de guías prácticas de procesos metalúrgicos para el laboratorio de minas de la Universidad del Azuay (Título de grado). Universidad del Azuay: Cuenca, Ecuador.

Manjili, M. ., France, M. ., Sangster, N. ., & Rothwell, T. L. . (1998). Quantitative and qualitative changes in intestinal goblet cells during primary infection of *Trichostrongylus colubriformis* high and low responder guinea pigs. *International Journal for Parasitology*, 28(5), 761–765. doi:10.1016/s0020-7519(98)00026-5

- Meyerholz, D. K., Rodgers, J., Castilow, E. M., & Varga, S. M. (2009). Brief communication: Alcian blue and pyronine y histochemical stains permit assessment of multiple parameters in pulmonary disease models. *Veterinary Pathology*, *46*(2), 325-328. <https://doi.org/10.1354/vp.46-2-325>
- Mohammad, H. J., Ali, A. K., & Al-Ali, Z. A. J. R. (2020). Histomorphological and histochemical structure in the duodenum of sheep (*Ovis aries*) and rabbit (*Oryctolagus cuniculus*); A comparative study. *Online Journal of Animal and Feed Research*, *10*(6), 251-257. <https://doi.org/10.51227/ojafr.2020.34>
- Montagne, L., Pluske, J. R., & Hampson, D. J. (2003). A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. *Animal Feed Science and Technology*, *108*(1-4), 95-117. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(03\)00163-9](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(03)00163-9)
- Moran, E. T., & Bedford, M. R. (2023). Endogenous mucin conveyed to the mucosa with microbes can assure lumen fermentation and large intestinal security—swine versus fowl. *Animal Nutrition*, *14*, 403-410. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2023.06.010>
- Naderinejad, S., Zaefarian, F., Abdollahi, M. R., Hassanabadi, A., Kermanshahi, H., & Ravindran, V. (2016). Influence of feed form and particle size on performance, nutrient utilisation, and gastrointestinal tract development and morphometry in broiler starters fed maize-based diets. *Animal Feed Science and Technology*, *215*, 92–104. doi:10.1016/j.anifeedsci.2016.02.
- National Research Council (NRC). (1995). Nutrient requirements of laboratory animal. National academy of sciences
- Pastor Piñeiro, J., & Villoslada, M.J. (2010). Estudio multidisciplinar de vertederos sellados. Caracterización y pautas de recuperación. Técnica para la medida del tamaño de partículas de los suelos de sellado de vertederos y escombreras mediante un equipo Mastersizer-S de laser rojo. Universidad de Alcalá, 121-132.
- Pelaseyed, T., Bergström, J. H., Gustafsson, J. K., Ermund, A., Birchenough, G. M. H., Schütte, A., van der Post, S., Svensson, F., Rodríguez Piñeiro, A. M., Nyström, E. E. L., Wising, C., Johansson, M. E. V., & Hansson, G. C. (2014). The mucus and mucins of the goblet cells and enterocytes provide the first defense line of the gastrointestinal

tract and interact with the immune system. *Immunological Reviews*, 260(1), 8–20. doi:10.1111/imr.12182

Prophet, E. B., Mills, Bob., Arrington, J. B., & Sobin, L. H. (1995). *Manual de Métodos Histotecnológicos del Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América*. Registro de Patología de los Estados Unidos de América.

Romero, C., Nicodemus, N., Rodríguez, J. D., García, A. I., & de Blas, C. (2011). Effect of type of grinding of barley and dehydrated alfalfa on performance, digestion, and crude mucin ileal concentration in growing rabbits¹. *Journal of Animal Science*, 89(8), 2472–2484. doi:10.2527/jas.2010-3226

Shiraishi, C. S., de Azevedo, J. F., da Silva, A. V., Sant’Ana, D. de M. G., & Araújo, E. J. de A. (2009). Análise morfométrica da parede intestinal e dinâmica de mucinas secretadas no íleo defrangos infectados por *Toxoplasma gondii*. *Ciência Rural*, 39(7), 2146-2153. <https://doi.org/10.1590/s0103-84782009000700030>

Shomer, N. H., Holcombe, H., & Harkness, J. E. (2015). Chapter 6 - Biology and Diseases of Guinea Pigs. En *Laboratory Animal Medicine: Third Edition* (pp. 247-283). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409527-4.00006-7>

Sotelo, M. A., Contreras, M. C., Norabuena, M. E., Carrión, C. G., Reátegui, Q. V., & Castañeda, R. (2018). Uso de la harina de maní forrajero (*Arachis pintoi* Krapov & WC Greg) en la alimentación de cuyes (*Cavia porcellus* L). *Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru*, 29(4), 1249-1258. <https://doi.org/10.15381/rivep.v29i4.15307>

Tang, C., Ma, J., Kong, F., Li, B., Du, Q., Zhang, Y., Wang, H., Tang, Q., Hu, S., Liu, L., Li, X., & Li, M. (2022). The Analysis of Transcriptomes and Microorganisms Reveals Differences between the Intestinal Segments of Guinea Pigs. *Animals*, 12(21). <https://doi.org/10.3390/ani12212925>

Tufarelli, V., Desantis, S., Zizza, S., & Laudadio, V. (2010). Performance, gut morphology and carcass characteristics of fattening rabbits as affected by particle size of pelleted diets. *Archives of Animal Nutrition*, 64(5), 373-382. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2010.496945>

Zapata, D. J., de Rodríguez, B. J., Patol, E., Ramírez, M. C., López, A., & Parra, J. (2014).
Escherichia coli lipopolysaccharide affects intestinal mucin secretion in weaned pigs.
Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias , 28, 209-217. [https://doi.org/doi: 10
.17533/udea.rccp.v28n3a01](https://doi.org/doi:10.17533/udea.rccp.v28n3a01)

11. Anexos

Anexo 1. Elaboración del balanceado



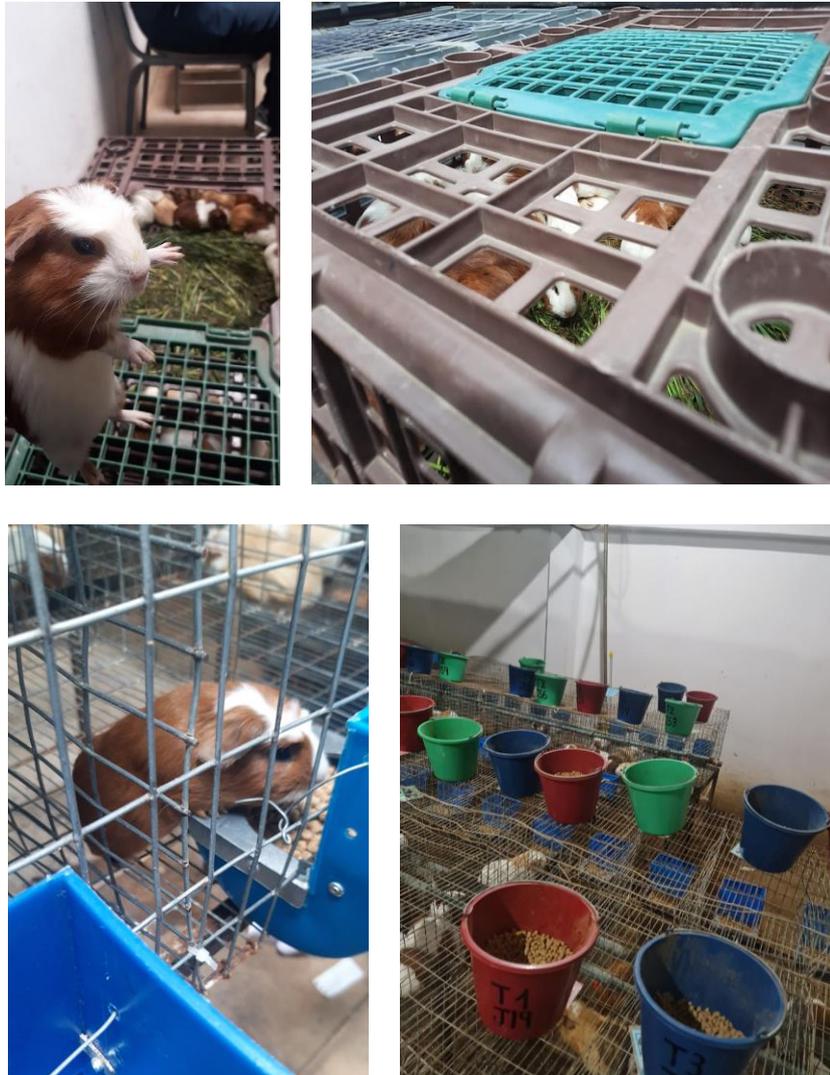
Anexo 2. Adición de Vitamina C por cada kilogramo de alimento en las dietas.



Anexo 3. Limpieza y adecuación del galpón.



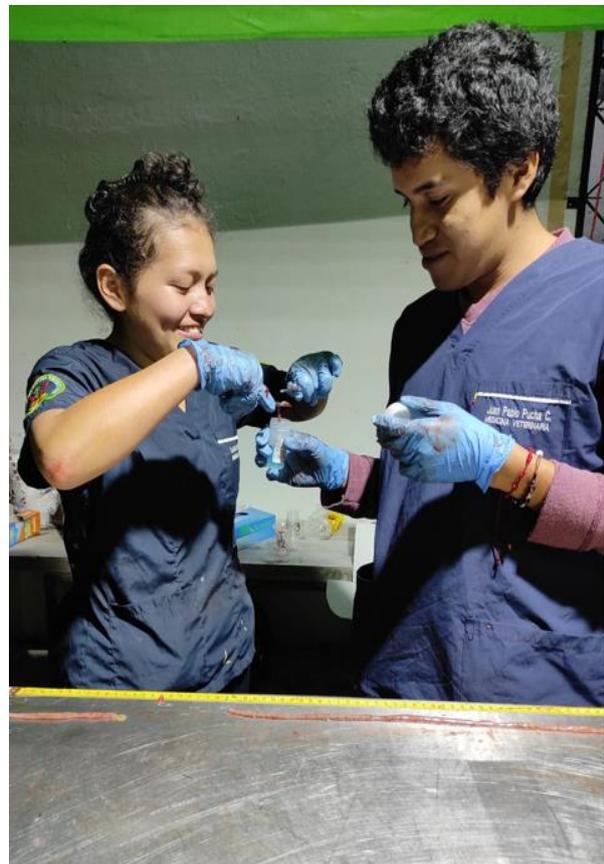
Anexo 4. Arribo y ubicación de los cuyes en las jaulas.



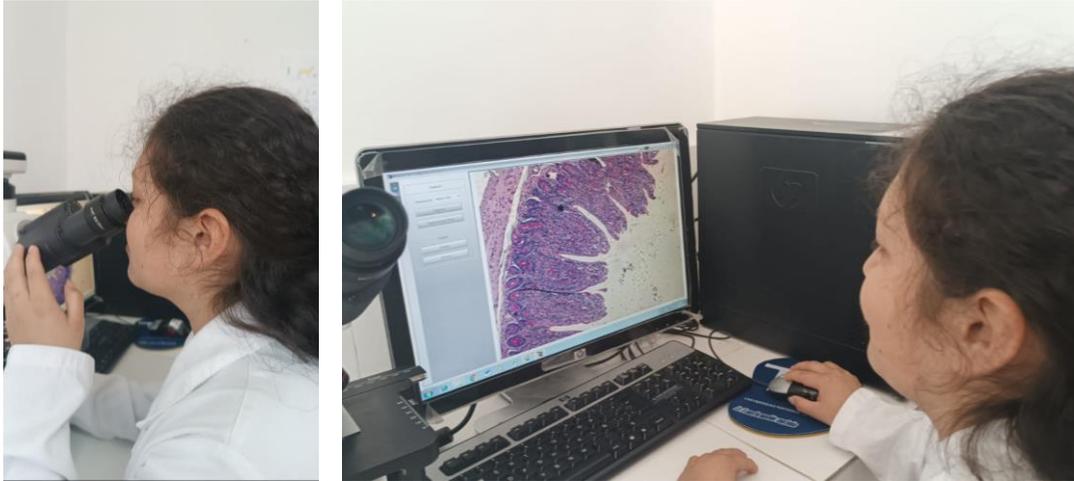
Anexo 5. Sacrificio y evisceración de los cuyes.



Anexo 6. Toma y envío de la muestra de yeyuno de los cuyes.



Anexo 7. Lectura y conteo de células caliciformes de las placas.



Anexo 8. Muestra de cada tratamiento de la muestra de post-destete.



Anexo 9. Colocación de las muestras de cada dieta en los matraces a movimiento constante durante toda la noche.



Anexo 10. Pesaje del detergente neutro para realizar la solución con agua destilada.



Anexo 11. Tamizaje vía húmeda de los tratamientos.



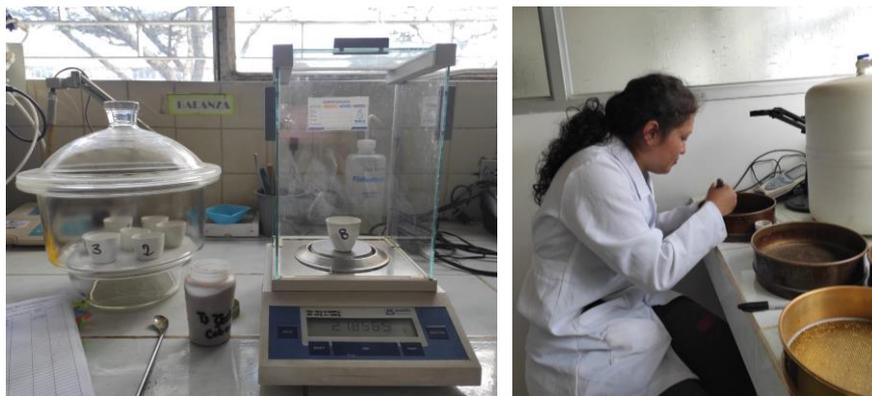
Anexo 12. Escurrimiento del rechazo/sobrante de los tamices.



Anexo 13. Pesaje de los tamices con el sobrante.



Anexo 14. Pesaje de crisoles con la muestra húmeda y ubicación en la estufa para obtener materia seca.



Anexo 15. Grupo de trabajo.



Anexo 16. Certificado de traducción del resumen.

Lic. Gladys Marlene Pucha Pucha

LICENCIADA EN LA ESPECIALIDAD INGLÉS

CERTIFICA:

Que el documento aquí compuesto es fiel traducción del idioma español al idioma inglés del resumen de tesis: **Estudio del efecto del tamaño de partículas de la dieta en las características histoquímicas de las células caliciformes intestinales de los cuyes** autoría de **Sara Abigail Samaniego Yaguache** con número de cédula **235091309**, previo a obtener el título de Médica Veterinaria en la Universidad Nacional de Loja.

Lo certifico en honor a la verdad y autorizo a la interesada hacer uso del presente en lo que a sus intereses convenga.

Loja, 13 de noviembre del 2023



Lic. Gladys Marlene Pucha Pucha

LICENCIADA EN LA ESPECIALIDAD INGLÉS