

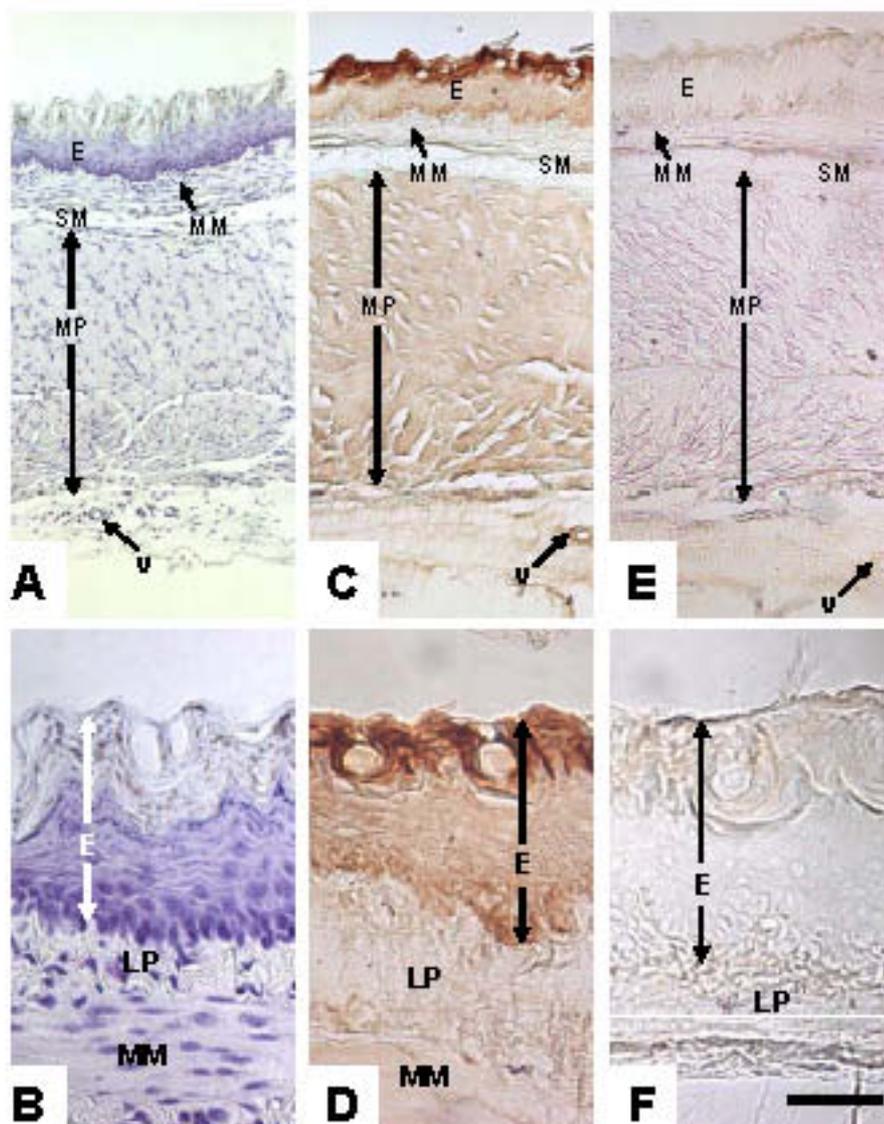
## Resultados

En el esófago de rata, se detectó una señal muy tenue para el mRNA de ADH1 en la base del grueso epitelio estratificado escamoso (resultados no mostrados), mientras que ADH4 se localizó en todas las capas de este epitelio, con una intensidad más o menos similar en todas ellas, y no en la capa *muscularis mucosae*. Al igual que en el mucosa lingual, los núcleos de la células del epitelio no mostraron señal positiva (Fig. 22A). El epitelio del esófago presenta una capa en contacto con el lumen, de células queratinizadas con una función protectora (Fig. 22A). Esta capa no presentó prácticamente señal específica para el mRNA de ninguna de las dos clases de ADH. Tampoco se encontró señal en la submucosa ni en la muscular propia (Fig. 22).



**Figura 22. Localización del mRNA de ADH4 en esófago de rata adulta mediante ISH. (A)** Intensa señal en el epitelio estratificado escamoso y más tenue en la parte queratinizada. La sección control de esófago hibridada con la ribosonda sentido para ADH4 no mostró una tinción específica **(B)**. E, epitelio estratificado queratinizado; MM, *muscularis mucosae*; SM, submucosa. Barra de calibración (mostrada en B): 50  $\mu$ m.

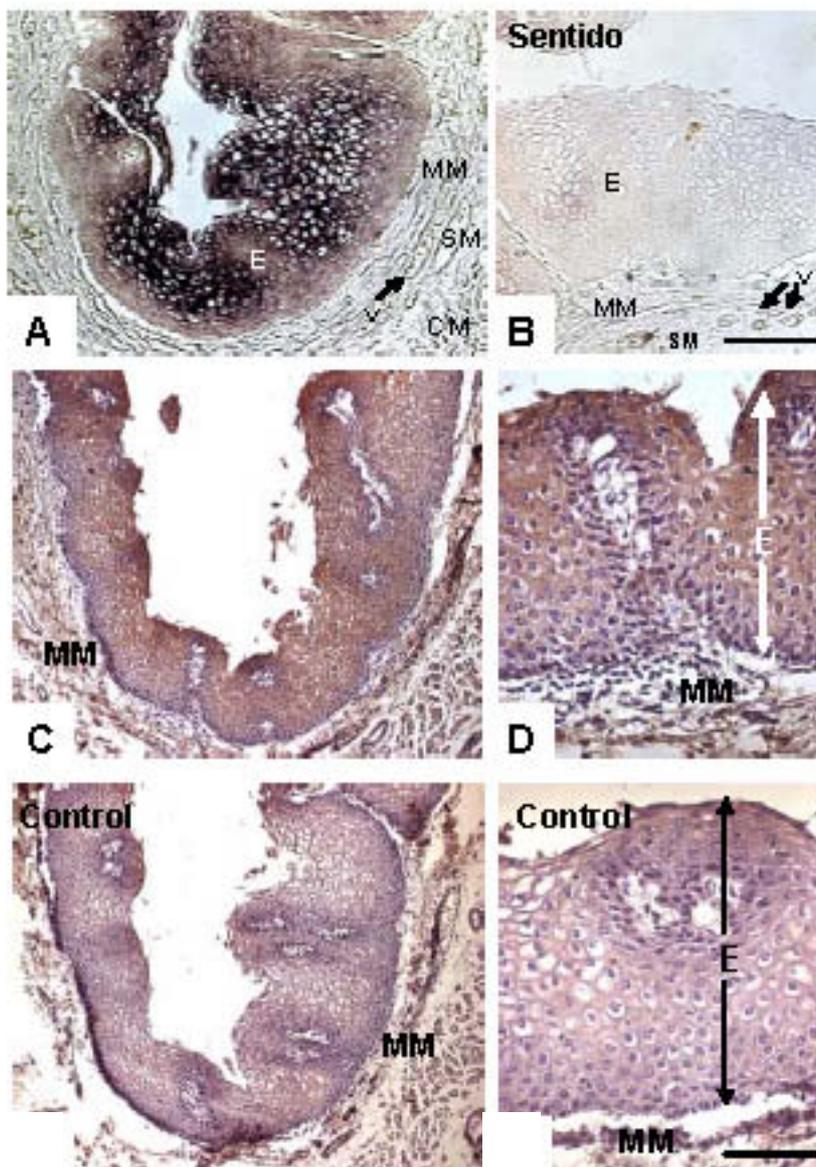
La IHC mostró la presencia de proteína ADH4 en toda la mucosa esofágica de rata incluida la capa queratinizada en contacto con el lumen (Fig. 23C y D). La *muscularis mucosae* no presentó señal. Finalmente, se detectó cierta señal positiva, aunque tenue, en la capa de tejido muscular esquelético (muscular propia) (Fig. 23C)



**Figura 23. Distribución de la proteína ADH4 en el esófago de rata mediante IHC. A y B,** sección de esófago teñida con hematoxilina donde se distinguen algunas de las capas histológicas y funcionales del esófago. **C y D,** inmunodetección de la proteína ADH4 en el epitelio escamoso estratificado y queratinizado de la mucosa esofágica. **E y F,** sección control en la que se ha omitido el primer anticuerpo específico para ADH4. **B, D y F,** detalle del epitelio estratificado de la mucosa esofágica a mayor aumento, en la que la zona queratinizada del epitelio no pudo enfocarse bien debido a la superposición de varias capas. E, epitelio multiestratificado queratinizado, LP, lámina propia, MM, *muscularis mucosae*; MP, muscular propia; SM, submucosa; v, vasos sanguíneos. Barra de calibración (mostrada en F): A, C y E, 200  $\mu\text{m}$ ; B, D y F, 50  $\mu\text{m}$ .

En esófago humano, la ISH con ribosondas específicas para ADH4 humana, se detectó el mRNA de ADH4 en el epitelio plano multiestratificado que, a diferencia de los roedores, no está queratinizado. Ninguna señal específica se detectó en la lámina

propia de la mucosa, en la *muscularis mucosae*, en la capa submucosa ni en la capa muscular (Fig. 24A).



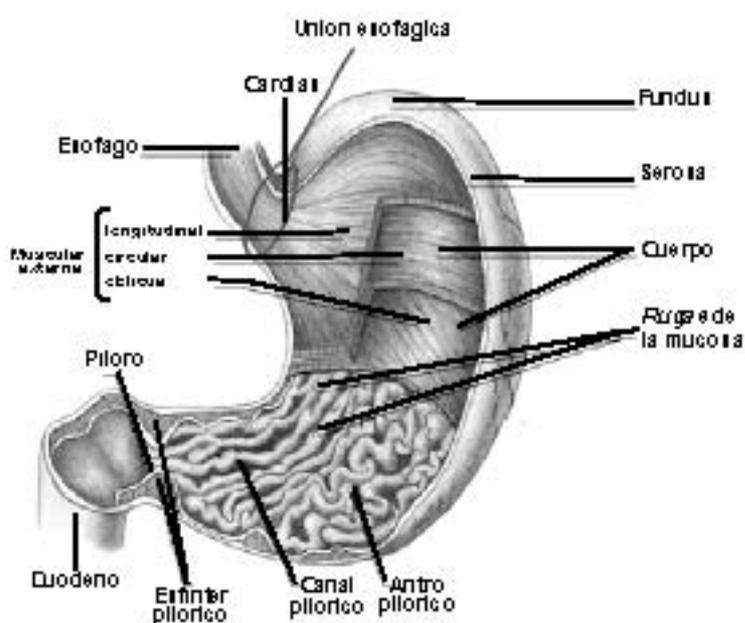
**Figura 24. Localización de ADH4 en secciones de esófago humano.** Detección del mRNA de ADH4 en el epitelio plano multiestratificado no queratinizado mediante ISH (A) y la correspondiente sección control hibridada con la ribosonda sentido para ADH4 humana (B). Detección inmunohistoquímica de la proteína ADH4 en el epitelio multiestratificado (C y D). Secciones control en las que se ha omitido la etapa de incubación con el primer anticuerpo (E y F). E, epitelio plano multiestratificado no queratinizado; MM, *muscularis mucosae*; SM, submucosa, CM, capa muscular. Barras de calibración (mostrada en F y en B): A, C y E, 200  $\mu$ m; B, D y F, 50  $\mu$ m.

La IHC, con anticuerpos policlonales contra ADH4 humana, mostró una señal

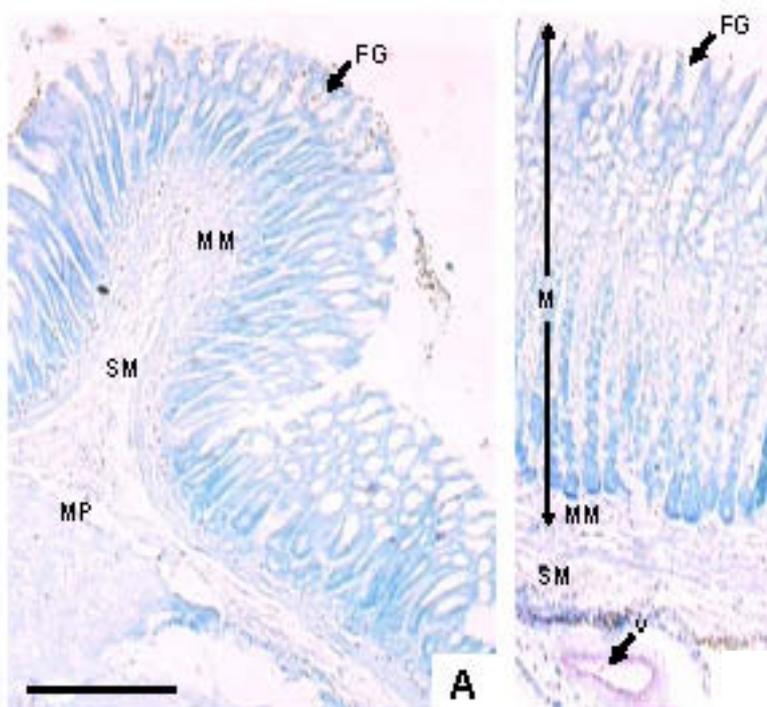
específica en aquellos tejidos en los que ADH4 se expresa abundantemente (Fig. 24C y D). Así, en las secciones de esófago humano, la señal positiva se detectó en el epitelio estratificado, coincidiendo con la localización del mRNA detectado mediante ISH (Fig. 24A).

#### 1.2.4.3 Estómago

El estómago es la porción dilatada del aparato gastrointestinal, donde el alimento ingerido es retenido durante dos o más horas hasta que sufre una transformación química y mecánica que forma el quimo. En el estómago, no existe prácticamente absorción de alimentos, aunque el alcohol es una importante excepción. Anatómicamente, el estómago se divide en cuatro regiones: cardias, fundus, cuerpo y píloro (antro pilórico) (Fig. 25). Las micrografías de la Fig. 26, ilustran la histología del cuerpo del estómago: la mucosa está formada por glándulas gástricas que se extienden desde el nivel de la *muscularis mucosae*, para abrirse a la luz del estómago mediante las fositas gástricas; la capa muscular está formada por la circular interna y la longitudinal externa; y la submucosa es relativamente laxa y distensible y contiene los mayores vasos sanguíneos.



**Figura 25. Esquema del estómago humano.** Se indican las regiones anatómicas en las que se divide el estómago y las capas histológicas que lo constituyen. En estado de contracción, la mucosa está surcada por prominentes pliegues longitudinales, llamados *rugos*, que permiten una gran distensión después de la ingestión de alimentos. El estómago de rata presenta una estructura muy similar (comparar con esquemas de la Fig. 16).



**Figura 26. Cuerpo del estómago de rata en estado no distendido.** Tinción histológica con Giemsa. FG, fositas gástricas; M, mucosa; MM, *muscularis mucosae*; MP, muscular propia; SM, submucosa; v, vaso sanguíneo. Barra de calibración (mostrada en A): 200  $\mu$ m.

En el estómago, los mRNAs de ADH1 y ADH4 se detectaron en la mucosa gástrica, aunque cada forma se localizó en diferentes niveles y tipos celulares (Fig. 27). ADH1 se detectó en las zonas media y basal de la mucosa gástrica y en la *muscularis mucosae*, y no en las células secretoras de mucus que cubren la superficie luminal del estómago (Fig. 27A y 28). A juzgar por la morfología celular y la localización en la mucosa, la mayoría de las células positivas para ADH1 se identificaron como células parietales u oxínticas, que son células secretoras de ácido clorhídrico, y que se distribuyen principalmente en la zona media de las glándulas gástricas. Es interesante destacar que, en la parte del estómago más cercana al píloro, se encontró una fuerte señal de hibridación para ADH1 en las células mucosecretoras de las glándulas, que en esta región están muy ramificadas, se abren a profundas e irregulares criptas y dan a los cortes histológicos una forma de hoja característica (Fig. 28). Esto es, el mRNA de ADH1 apareció de forma gradual en la zona de la mucosa más cercana al lumen a medida que se aproximaba la unión gastroduodenal (Fig. 28A, C y D). En contraste, la expresión de ADH4 desapareció súbitamente de la mucosa al principio del duodeno (Fig. 30A y B).