# OBSERVACIONES SOBRE LA ESTRUCTURA HISTO-LOGICA DEL PANCREAS ENDOCRINO DE "AMPHISBAENA DARWINI"

por

### HERBERTO PRIETO DIAZ

(Del Laboratorio de Embriología e Histología Normal)

El estudio histológico de los islotes de Langerhans en los reptiles se inicia en 1895 con las observaciones de Pischinger y se prosigue en los años siguientes con los trabajos de Gianelli y Giacomini (1896), Laguesse (1898) y Diamare (1899).

Después de un largo período de tiempo, durante el cual el páncreas endocrino de los reptiles no despertó el interés de los investigadores, corresponde a Thomas el mérito de haber reactualizado el tema, a la luz de las técnicas modernas, con su trabajo de 1941 sobre el páncreas de las serpientes.

Gianelli y Giacomini, después de señalar la presencia de los islotes en los páncreas de los numerosos reptiles estudiados, observación de mérito en la época en que fué realizada, destacan que se presentan bien delimitados o mejor dicho, bien diferenciados del tejido exocrino, contrariamente a lo que es común observar en los vertebrados superiores. Los describen como constituídos por células cilíndricas altas, que presentan en su citoplasma gránulos que se colorean con la safranina, y poseen un núcleo muy cromático situado en el polo-distal de las mismas, es decir en el extremo opuesto al capilar sanguíneo con el cual la célula se relaciona. Además, describen y señalan la existencia de pequeños conductillos excretores entre el tejido

insular, hecho que representaría una excepción, con respecto a lo que se observa en los demás vertebrados.

Laguesse también se ocupó del tejido que constituye los islotes de Langerhans en el páncreas de las serpientes. Lo describió como formado por acúmulos voluminosos situados en la porción de la glándula vecina al bazo. Ellos constituyen los islotes primarios por oposición a otros de tamaño pequeño que aparecen diseminados por el resto de la glándula, llamados islotes secundarios, señalados también por Laguesse.

Los islotes estarían constituídos, según dicho investigador, por cordones de células altas ordenadas radialmente con relación a los capilares sanguíneos. El citoplasma de estas células presenta numerosas granulaciones que se colorean, como ya lo habían señalado anteriormente Gianelli y Giacomini, con la safranina.

Diamare realizó observaciones sobre los islotes de numerosos reptiles (Elaphis, Zamenis, Vípera, Lacerta), llegando a establecer que ellos constituyen un tejido bien diferenciado del tejido pancreático propiamente dicho (exocrino). En base a observaciones de los investigadores que anteriormente se habían ocupado del tema, Diamare sostiene que en los reptiles pueden describirse dos tipos de islotes, según su afinidad tintorial: islotes cuyos componentes tienen gran afinidad por los colorantes, islotes leptocromos, e islotes cuyos componentes presentan una menor afinidad por dichas substancias, islotes baticromos. En Kinosteron pennsylvanicum los islotes son del tipo leptocromo, mientras que en Crysemis picta los hay leptocromos y baticromos, es decir, de los dos tipos. Diamare no encuentra los conductillos excretores intrainsulares descriptos por Gianelli y Giacomini. Tampoco ha podido observar la transformación del tejido exocrino en insular señalada por Laguesse.

Oppel en su tratado, dice que los islotes se encuentran diseminados por toda la glándula en los saurios, mientras que en los ofidios se localizan en la zona vecina al bazo.

Estas investigaciones no fueron proseguidas en los años subsiguientes. Sólo al cabo de muchos años, el páncreas de los reptiles ha vuelto a interesar a los histólogos. Es digno de señalarse el curioso hecho de que, a pesar de haberse mejorado notablemente las técnicas utilizadas en el estudio de los islotes, ellas no fueron aplicadas al páncreas de los integrantes del grupo zoológico que nos ocupa.

En efecto, después de los trabajos de Lane (1908-9) y de Bensley (1911), se contó con una técnica basada en la aplicación de los colorantes neutros de anilinas, que permitía diferenciar netamente las células A, B y C, individualizadas por aquellos investigadores. Ni ella, ni sus numerosas variantes, resumidas en el trabajo de Bailey (1937), fueron aplicadas a este material.

La introducción del método Azan, por parte de Bloom en 1931, (¹) como técnica de elección para el estudio de los islotes de Langerhans, pues permite diferenciar los tres tipos celulares A, B y D, ha llevado a algunos investigadores a efectuar una revisión de la anatomía microscópica de esas formaciones con ayuda de tan eficaz procedimiento técnico, en los diversos grupos de vertebrados.

Respondiendo seguramente a dicha directiva, Thomas, que ya había aplicado esa técnica en mamíferos y en selacios, se ocupó en un trabajo publicado en 1942, del páncreas de las serpientes con especial referencia al tejido endocrino.

En las especies estudiadas por Thomas, el tejido insular constituye una gruesa masa, o varias menores, situadas en la porción del órgano que contacta con el brazo, es decir, en el polo esplénico del páncreas. Además existen algunos pocos y pequeños islotes en el resto de la glándula.

Están formados por células de los tipos A, B y D, diferenciables por su particular afinidad hacia los colorantes utilizados en la técnica Azan.

En el trabajo de Thomas, se precisan muy bien las

<sup>(1)</sup> En realidad algunos investigadores habían aplicado ya esta técnica al estudio de páncreas, pero, como muy bien dice Thomas, coresponde a Bloom el alto mérito de haber evidenciado su extraordinaria importancia en estos estudios.

relaciones entre el tejido insular y los conductos excretores. Aquel se desarrolla de las paredes de los ductos, colocándose las células a lo largo de éstos, como nuevas capas epiteliales. También pueden las células insulares constituir la pared del conducto en cuyo caso, la luz del mismo se estrecha progresivamente hasta quedar muy reducida o desaparecer por completo. Suele darse el caso de que un ducto desarrolle tejido insular de un lado y exocrino en el otro. Además, Thomas señala la presencia de células en degeneración colocadas en la fila de las células exocrinas.

Todas estas disposiciones explican, a nuestro juicio, la confusión y las discrepancias de los investigadores que anteriormente se han ocupado de este tema.

Nosotros, creyendo de interés, por lo anteriormente expuesto, el estudio del tejido endocrino del páncreas de los reptiles, hemos realizado algunas observaciones tanto en quelonios, como en ofidios y saurios. En este trabajo, sólo nos referimos a nuestras observaciones sobre el tejido insular del páncreas de "Amphisbaena Darwini", saurio ápodo, de vida subterránea, común en nuestro ambiente.

### I. — MATERIAL Y METODOS

El páncreas de Amphisbaena es una pequeña masa globulósa situada entre el intestino y el bazo, íntimamente unida a ambos. Es frecuente que esta última glándula, al aplicarse contra el páncreas lo deprima formando una pequeña foseta, en la cual se aloja. El mayor diámetro de la glándula pancreática es de 5 mm.

Los ejemplares de Amphisbaena fueron muertos por decapitación. Extraído inmediatamente el páncreas, se fijó en líquido de Bouin modificado por Gomori y en Zenckerformol con y sin ácido ósmico. El tiempo de fijación fué de 12 a 20 horas para el Bouin y de 10 horas para el Zencker-formol.

Los cortes fueron coloreados según el método Azan, en la forma indicada por Thomas.

También aplicamos la técnica propuesta por Gomori,

que nos ha dado buenos resultados en diversos vertebrados. Con ella se diferencia muy bien las células A y B, que muestran en forma muy clara, sus granulaciones características.

Este método se basa en la oxidación de las granulaciones beta, en los cortes, con una mezcla de permanganato de potasio, ácido sulfúrico y agua (0,30 grs. de cada uno de aquellos componentes en 100 c.c. de agua) y subsiguiente decoloración con bisulfito de sodio al 3 %. La coloración se efectúa con hematoxilina crómica y floxin o ponceau de xilidina.

Las células B aparecen color azul celeste, mostrando sus características granulaciones teñidas de azul celeste o gris claro.

Las células A se tiñen intensamente de color rojo.

Las células D, son las menos diferenciadas, se colorean en forma menos intensa que las A mostrando, por consiguiente su citoplasma teñido en rosa.

### II. — RESULTADOS OBTENIDOS

# 1 — Forma y distribución del tejido insular.

El páncreas de Amphisbaena, estudiado en cortes histológicos, muestra la particula r distribución del tejido endocrino. En efecto, este aparece repartido en la mitad yuxta-esplénica del órgano, salvo algunos escasos y pequeños acúmulos que pueden observarse en la mitad vecina al intestino. Tal disposición coincide con las descripciones dadas por los investigadores que se han ocupado anteriormente del tema. Sin embargo, no es tan exagerada como en los ofidios, en los cuales los islotes están localizados en una pequeña zona que contacta con el bazo y aún pueden aparecer incluídos en él.

Los islotes adoptan la forman de largos cordones, flexuosos e irregulares que se extienden desde el centro del órgano hacia la perifería, sin llegar a alcanzar la cápsula de envoltura. A veces aparecen fragmentados, pero es evidente aun en estos casos que los distintos segmentos constituyen un todo común. El espesor de estos cordones oscila entre 60 y 120 micras, con porciones engrosadas que llegan a alcanzar hasta 200 micras.

Estas características de los islotes se aprecian muy bien en los cortes transversales del páncreas. En cambio en las secciones longitudinales aparecen como acúmulos de forma redondeada, tal como aparecen en las figuras 1 y 2.

En general, los islotes se muestran netamente separados del tejido exocrino, por una delgada lámina conjuntiva, pero a veces ésta parece faltar, por cuyo motivo, ambos tejidos en íntimo contacto parecen continuarse uno con otro.

## 2 — Tipos celulares.

Las técnicas utilizadas permiten diferenciar en el tejido insular de Amphisbaena tres tipos celulares: A, B y D.

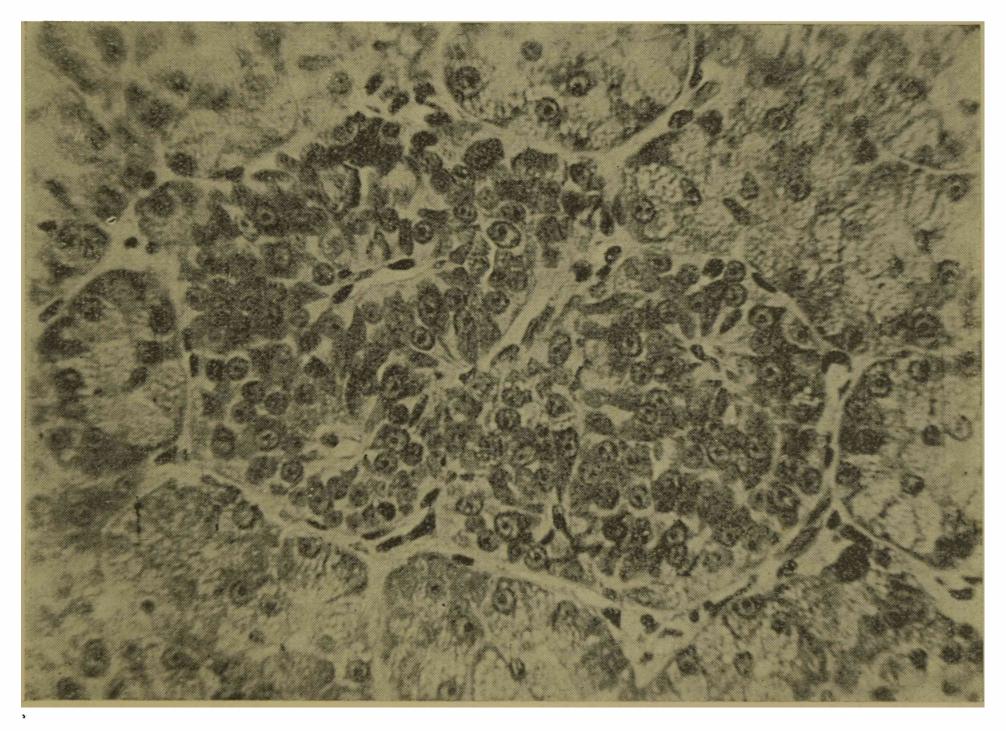
a) C'elulas~A. — Son las más numerosas, pues representan aproximadamente el 75 % del total de c\'elulas de los islotes.

Adoptan la forma de prismas altos o de pirámides truncadas, con una base menor apoyada sobre un capilar sanguíneo y otra más gruesa, en la que asienta el núcleo, dirigida hacia el centro del cordón celular.

Algunas células A presentan forma en raqueta, con un pie delgado apoyado sobre el capilar y un cuerpo redondeado o ensanchado. Entre este tipo celular y los anteriormente señalados, existe una serie completa de formas de transición. Suelen observarse, a veces, algunas células de este tipo que muestran una disposición inversa. Presentan una base ancha aplicada sobre el capilar y un extremo menos grueso, donde reside el núcleo, dirigido hacia el eje del cordón o trabécula.

El citoplasma de estas células aparece cargado en toda su extensión de finas y apretadas granulaciones que se tiñen con el azocarmín y con la floxina, según el método de coloración usado. En algunas células, se pueden observar pequeños espacios, que simulan conductillos intracelulares, desprovistos de granulaciones. Ellos representan el espacio ocupado por la substancia golgiana.

También suelen encontrarse células con pequeñas vacuolas ocupadas por una substancia no coloreable por los colorantes que tiñen las granulaciones específicas de las mismas.



Islote de Langerhans de Amphisboena Darwini. Fijación Bouin. Coloración: Hematoxilina. Floxin.

El núcleo es redondeado, con un único y grueso nucleolo. Ocupa siempre el polo o extremo antihemal de la célula.

La afinidad tintorial del citoplasma de estas células puede variar en cierto grado. Ello es debido a procesos de degranulación, vinculados a diferentes estados funcionales de las células. La degranulación, de mayor o menor grado, es siempre de tipo difuso.

b)  $C\'{e}lulas~B.$  — Este tipo celular representa poco menos del 25 % del total de c\'elulas del islote.

Son de forma prismática, más regular que la de las células A, y se apoyan, también, por una de sus bases sobre un capilar.

Su citoplasma aparece cargado de gránulos coloreados de azul o pizarra cuando se utiliza la técnica de Gomori. Si se ha aplicado el método Azan estas células se muestran de color amarillo naranja.

Las granulaciones de estas células son algo más gruesas que las que se observan en las A y además son menos abundantes y por consiguiente se disponen en forma menos apretada.

El núcleo ocupa una posición más central que en las células A. Es también de forma ligeramente ovalada y posee uno o dos nucleolos o bien varios grumos cromáticos.

No hemos observado formas de transición entre células A y B.

c) Células D. — Las células de este tipo son muy escasas. Son también de forma prismática y su citoplasma se colorea de azul pálido con el azul de anilina. Muestra algunas granulaciones también coloreadas en azul. Con la técnica de Gomori se colorean débilmente con la floxina, siendo poco diferenciables de las células A, sobre todo de aquellas que presentan cierto grado de degranulación.

El núcleo de estas células D, es algo más pequeño que el de los otros tipos celulares. Es también más cromático. Presenta un nucleolo.

d) Disposición de las células en el islote. — Las células insulares se agrupan formando gruesos cordones de 50 a 60 micras de espesor. Cada uno de los islotes alargados que hemos descripto más arriba, puede estar constituído por uno o más de estos cordones. Dentro de estos cordones las células se ordenan radialmente con respecto a los capilares sanguíneos. Esta disposición es muy visible en los cortes que seccionan transversalmente a los islotes, como en el caso de la figura 1 y 2 Suelen observarse a raíz

de esta orientación de las células insulares bellas figuras en roseta.

Además las células se disponen regularmente unas al lado de las otras, alternando a veces las de distinto tipo, lo cual hace más evidente la disposición en rosetas señalada más arriba.

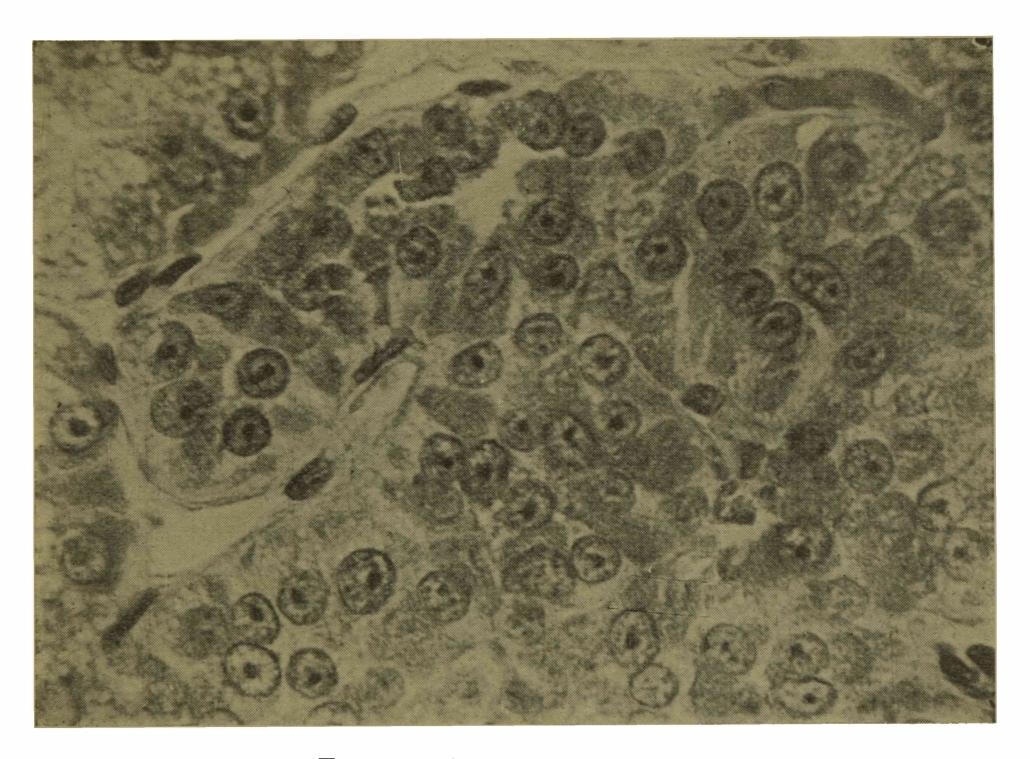


Fig. 2. — it. a mayor aumento.

La imagen reproducida en la figura 3, es ejemplo de ello.

Con respecto a las relaciones de las células con el sistema excretor, debemos decir que la característica forma de los islotes está revelando su relación genética con los ductos excretores.

Existen además en algunos islotes, pequeños espacios limitados por células insulares bajas que representan restos de canalículos transformados en tejido endocrino. En las porciones periféricas de algunos islotes hemos observado

células exocrinas enfrentadas a células insulares, separadas por un espacio fisural. Estas imágenes tienen el mismo valor que aquellas a que se refiere Thomas, cuando dice que un ducto puede desarrollar tejido endocrino por un lado y exocrino por el otro. Estas células pancreáticas aparecen comprimidas y verosímilmente se atrofian o degeneran.

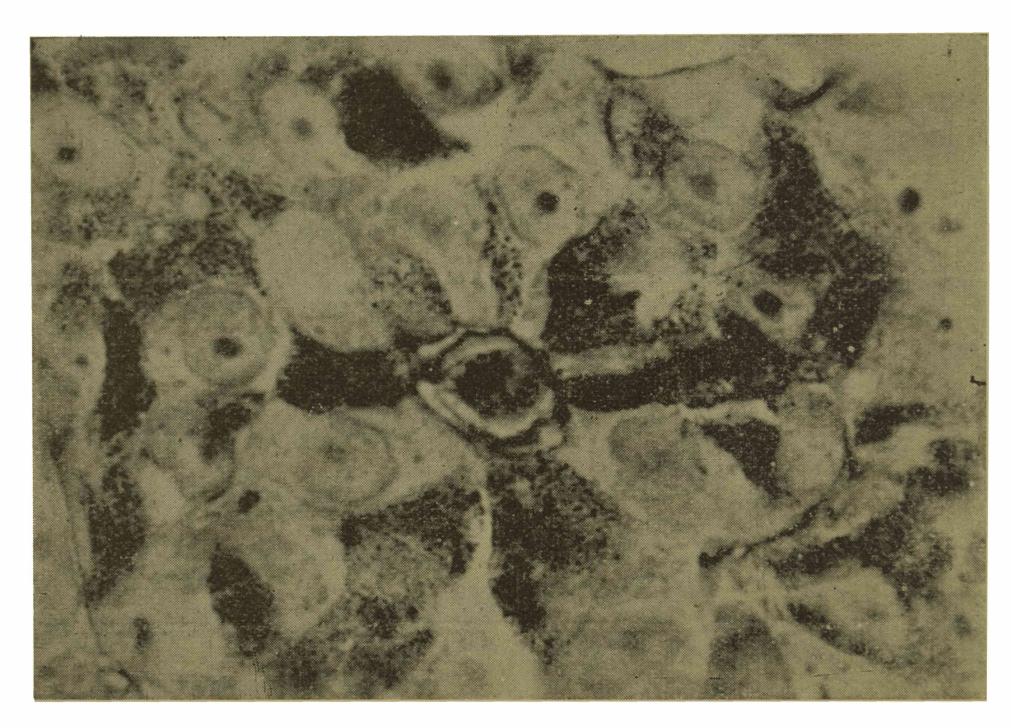


Fig. 3. — Células insulares A y B rodeando un capilar. Fijación Zencker-formol. Coloración: Azan.

# III. — CONCLUSIONES

- 1º El tejido insular de "Amphisbaena Darwini" está integrado por células de los tipos A, B y D.
- 2º Es característica la predominancia del tipo A, ya que comprende el 75 % del total de células de los islotes.
- 3º La situación topográfica y la forma de los islotes, así como la particular disposición de algunos ele-

mentos celulares, evidencian la relación genética del tejido insular con los ductos pancreáticos.

#### **BIBLIOGRAFIA**

Sólo mencionamos la bibliografía moderna, incluyendo los trabajos posteriores al año 1930 y a los cuales se alude en este trabajo.

- 1. Bloom, W. A new type of granular cell in the islets of Langerhans of man. Anat. Rec. V. 49, pág. 363, 1931.
- 2. Bayley, J. H. Stating methods for islets of Langerhans. Jour. Path. and Bact. V. 44, pág. 297, 1937.
- 3. Gomori, G. A. differential stain for cells types in the pancreatic islets. Am. J. Path. V. 15, pág. 497, 1939.
- 4. Gomori, G. Observ. with diff. stains on human islets of Langerhans. Am. J. Path. V. 17, pág. 395, 1941.
- 5. Thomas, Th. B. Cells components of the mammalian islets of Langerhans. Am. J. of Anat. V. 62, pág. 31, 1938.
- 6. Thomas, Th. B. The pancreas of snakes. Anat. Rec. V. 82, pág. 327, 1942.

#### RESUMEN

Observaciones sobre los islotes de Langerhans de Amphisbaena Darwini, por el Dr. HERBERTO PRIETO DÍAZ, Profesor Libre de Embriología e Histología Normal de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de La Plata.

Los islotes de Langerhans de Amphisbaena están constituídos por células de los tipos A. B. y D. con predominio del A (70%). Es evidente la relación genética con los ductos pancreáticos.

Des observations sur les illôts de Langerhans de amphisbaena darwini, par le Dr. HERBERTO PRIETO DÍAZ, Professeur Libre d'Embriologie et d'Histologie Normale de la Faculté de Médecine de l'Université Nationale de La Plata.

Les illôts de Langerhans d'Amphisbaena sont contitués par des célulles des types A. B. y D. prédominant celles du type A (75 %). C'est évident la rélation génétique avec les ducts pancréatiques.

Observations upon the islets of Langehans of Amphisbaena Darwini, by Dr. Herberto Prieto Díaz, Free Professor of Embriology and Normal Histology of the Faculty of Medicine of the National University of La Plata.

The islets of Langerhans of Amphisbaena are constituted by cells of A. B. and D. type, predominating those of A. type (75%). It is evident genetic relation with pancreatic ducts.