

## CELULAS "APUD" DEL PANCREAS

### ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO SOBRE EL SISTEMA "APUD" DEL ORGANISMO

Cuando a comienzos de la década del 60 dos autores suecos, Falck e Hillarp, desarrollaron un método de alta especificidad y sensibilidad para la demostración histoquímica de monoaminas (MA) (dopamina, noradrenalina, adrenalina y serotonina) (cf. Falck y Owman, 1965), se abrió una nueva era en diversas disciplinas médicas y biológicas al contar con un instrumento útil para visualizar a nivel microscópico la presencia de las mencionadas aminas biógenas.

Brevemente expresado, la mencionada técnica consiste en tratar el material biológico con vapores de formalina y posterior observación de los cortes a la luz ultravioleta. Bajo la acción del formol, las MA y algunos de sus precursores químicos se transforman en derivados fluorescentes que emiten luz verde (catecolaminas) o amarilla (serotonina) al ser excitados con ultravioleta.

La aplicación de la técnica de Falck-Hillarp a diversos órganos endocrinos reveló resultados inesperados: muchas células secretoras de polipéptidos mostraron que en el citoplasma de las mismas, juntamente con la hormona almacenada coexistía una MA. Posteriormente, dos autores argentinos (Jaim Etchevery y Zieher, 1968, 1968 a) demostraron con el microscopio electrónico la coexistencia de la MA y de la hormona en el mismo gránulo secretorio.

A medida que se fueron profundizando los estudios sobre el tema, pudo observarse que este fenómeno de presencia de MA en células peptídicas no gozaban de una constancia de propiedad a través de la ontogenia o filogenia, como ocurre con otros muchos parámetros biológicos. En efecto, así pudo constatarse: a) que no siempre una célula endocrina particular mostraba contener la misma MA en las diversas especies de animales; por ejemplo, las células secretoras de tirocalcitonina (células parafoliculares de la tiroides, células "C") contenían serotonina en la oveja, dopamina en el pollo y ninguna amina en el ratón, aunque en esta última especie era factible inducir a las células "C" a que fabricaran y almacenaran dopamina o serotonina luego de la inyección de L-DOPA o 5-hidroxitriptófano (Larson y col., 1966), aminoácidos éstos precursores

respectivos de las mencionadas MA; b) que no siempre una misma célula endocrina durante el desarrollo ontogénico del animal, mantenía la propiedad de mostrar la presencia espontánea de la MA o la propiedad de sintetizarla a partir del precursor (Pearse, 1979).

En el año 1966, Pearse comienza a tomar conciencia de que muchas de las células endocrinas secretoras de péptidos almacenan una MA en su citoplasma, sea espontáneamente o a través de la inducción de la síntesis de ella mediante la administración del pertinente precursor. A medida que transcurre el tiempo el mencionado autor agrega a su clasificación nuevas estirpes celulares, tales como las diversas células endocrinas del tubo digestivo y a la adenohipófisis, quedando marginadas de la mencionada serie las glándulas secretoras de esteroides (gónadas y corteza adrenal), la tiroides y paratiroides. Pearse advierte que estas células comparten con sus similares otras propiedades, pero para denominarlas en forma común enfatiza la *propiedad que poseen de sintetizar monoaminas* y opta por el término APUD, que es la sigla correspondiente a "Amine Precursor Uptake and Decarboxylation" (captadoras y descarboxilantes de precursores de aminas). Al referirse a "descarboxilantes" quiere significar que contienen una enzima que cataliza la formación de MA a partir de sus aminoácidos precursores: L-DOPA en el caso de las catecolaminas y 5-hidroxitriptófano en el caso de la serotonina. Dicha enzima es la DOPA-descarboxilasa o similares.

A la propiedad APUD del conjunto de células que constituyen este peculiar sistema, Pearse (1971) agrega otras cualidades, que pueden resumirse en la siguiente tabla.

#### Características histoquímicas de las células secretoras de hormonas peptídicas pertenecientes a la serie APUD

1. Contienen MA o pueden sintetizarlas a partir de precursores administrados exógenamente.
2. Contienen la enzima DOPA-descarboxilasa.
3. Contienen alta concentración de grupos laterales carboxilos o carboxiamidas.
4. Poseen intensa actividad esterásica o colinérgica.

\* Profesor titular de la Cátedra "B" de Embriología e Histología de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de La Plata

Director del Centro de Estudios Endocrinos y Miembro de la Carrera del Investigador Científico del CONICET

Subvencionado por la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires

5. Evidencian alta actividad enzimática correspondiente a la reductasa alfa-glicerofosfato menadiónica.
6. Son derivadas de estructuras embrionarias que constituyen el origen del sistema nervioso (cresta neural).
7. Contienen la enzima enolasa neuro-específica. (Esta característica es agregada por quien escribe estas líneas a las originales de Pearse, que engloban hasta el punto 6. Véase más adelante.)

Pasaremos a continuación a considerar dos puntos de extrema importancia en la mencionada clasificación, i.e., el origen nervioso del sistema APUD y la presencia de enolasa en las células que lo constituyen.

Hasta hace relativamente poco tiempo se admitía que solamente tres glándulas endocrinas eran derivados embriológicos del sistema nervioso: a) la médula adrenal; b) la pineal, y c) la neurohipófisis. Pearse (1979) asume que todas las células de la serie APUD son neuroderivadas, lo que resulta difícil admitir para el lector desprevenido. Sin embargo, dicho origen ha sido fehacientemente demostrado para las células parafoliculares de la tiroides (Le Douarin y Le Lievre, 1971), población celular tomada como modelo de excelencia en la serie APUD. En principio, también resulta difícil de admitir que la adenohipófisis sea un derivado de la cresta neural, en tanto que los conocimientos clásicos de embriología indican que dicha zona glandular deriva del estomodeo a través de la bolsa de Rathke. Sorprendentemente, Takor Takor y Pearse (1975) parecen demostrar que la adenohipófisis deriva de un brote de ectodermo neural que invade a la bolsa de Rathke, que actuaría como mero inductor embriológico.

De acuerdo con lo expresado más arriba, existen casos en que algunas células asignadas a la serie APUD no poseen la propiedad que implica la sigla APUD —valga la paradoja.

En una reciente entrevista que mantuvo el presente autor con el Prof. Pearse en Londres, éste le expresó que su concepto APUD merecía ser revisado, estimando que consideraba de mayor importancia el origen nervioso de su sistema endocrino que la propiedad de contener MA en sus células. Sin embargo, como no en todos los casos la embriología había podido demostrar el origen nervioso de algunas células de su serie, el Prof. Pearse se hallaba en la búsqueda de algún trazador común que permitiese conectar las células APUD con el tejido nervioso. Para fortuna del mismo, tres autores norteamericanos (Schmichel y col., 1978) pudieron comprobar mediante métodos inmunohistoquímicos que una enzima, la enolasa neuroespecífica, que se halla en la totalidad de las neuronas del sistema nervioso y en la glía estaba también presente en todas las células de la serie APUD, evidenciando así la conexión existente entre los dos sistemas.

Estos conceptos inducen a una revolución conceptual en el área de la neuroendocrinología. Hasta ahora era admitido como fenómeno neuroendocrino aquel que ocurre en una neurona

neurosecretora, o entre esta neurona y una célula epitelial endocrina. Si la casi totalidad de las células secretoras de péptidos resultan ser "neuronas modificadas" derivadas de un neuroblasto precursor común, debería aceptarse que todos los fenómenos que en ellas acontecen son auténticamente neuroendocrinos.

Tal vez convendría cambiar la denominación APUD por la de "sistema epitelial neuroendocrino periférico".

Pasaremos ahora a realizar algunas consideraciones sobre el significado funcional de las MA contenidas en las células endocrinas.

Desafortunadamente es poco lo demostrado a este respecto. Debido a que ha sido hallada cierta correlación entre el contenido de MA y el estado funcional de la glándula, diversos autores (Cegrell y col., 1969) son acordes en expresar que la MA "juega algún papel" en el control de la secreción hormonal, pero no se ha avanzado en establecer en qué consiste este rol. Otros, más escépticos, piensan que la presencia de la MA no representa más que un resabio ancestral indicativo del origen nervioso de la serie APUD, debido a que se preservaría cierta similitud bioquímica entre estas células y las neuronas catecolaminérgicas, auténticas elaboradoras de MA que utilizan como mediadores sinápticos.

Cuando con sentido teleológico se trata de establecer prioridad entre el significado de la hormona peptídica y la MA de cualquier célula APUD, pareciera que la primera debería ocupar un lugar preponderante. Sin embargo, y como si la naturaleza quisiera complicar las interpretaciones humanas, en la glándula paradigmática del sistema APUD, i.e., la médula adrenal, las MA (adrenalina y noradrenalina) resultan soberanas, mientras que el péptido, la cromogranina, jugaría un papel secundario, no hormonal, sirviendo únicamente como forma de soporte granular para el almacenamiento intracelular de las respectivas MA.

## EL SISTEMA "APUD" EN EL PANCREAS

Por definición, la búsqueda del sistema APUD pancreático debe concentrarse en su sector endocrino, es decir, en los islotes de Langerhans, productores de los bien conocidos insulina y glucagón, y de otros péptidos recientemente detectados, tales como somatostatina y péptido pancreático.

Falck y Hellman (1964) fueron los primeros en demostrar que las células beta de los islotes del cobayo contenían serotonina. Esta publicación ocurrió en momentos en los que aún no estaba sentado el concepto APUD. Posteriormente, diversos autores investigaron la presencia de MA en los islotes de diversas especies de animales, pudiendo constatar la paradoja APUD a las que nos referimos algo más arriba. Así, por ejemplo, se vio que en el cobayo neonato no solamente las células beta contenían una MA, sino también las alfa (Cegrell, 1968), predominando la dopamina. En el gato (Legg, 1968), y en la paloma (Cegrell, 1968) solamente las células alfa muestran fluorescencia específica. En el hombre y en

la rata no existen MA detectables histoquímicamente (Dayan, 1967), aunque en esta última especie los islotes captan L-DOPA (Gagliardino y col., 1970), cosa que no ocurre en el hamster (Iturriza y Gagliardino, 1973).

Algunos autores discrepan con el concepto de englobar a los islotes humanos en la serie APUD. Más aún, a favor de esta discrepancia se halla: a) la imposibilidad de los embriólogos de haber demostrado migración alguna de células de la cresta neural hacia el tejido insular (Fontaine y col., 1977), y b) el antiguo y clásico concepto de que las células insulares se originan a partir de las células ductales, o por transformación de las acinosas exocrinas (cf. Prieto Díaz y col., 1967). Sin embargo, observaciones realizadas por nuestro grupo de trabajo podrían clarificar en parte el problema. En oportunidad del análisis bioquímico de un insulinooma (Iturriza y col., 1970) pudimos detectar la presencia de dopamina en el mismo, y muy recientemente (Iturriza y col., 1980), en otro tumor similar encontramos actividad propia de la enzima tirosina-hidroxilasa, que interviene en el primer paso de la síntesis de catecolaminas, transformando la tirosina en dihidroxifenilalanina (DOPA). Consecuentemente, los insulinomas mostrarían propiedades comunes con la serie APUD, por lo que se tratarían de verdaderos APUDomas.

¿Qué pasa entonces con los islotes humanos y de rata? Como explicación tentativa podría expresarse que la cantidad de MA almacenada en los islotes de las dos especies en cuestión no es suficiente como para ser detectada histoquímicamente, mas sí bioquímicamente.

En cuanto a la incapacidad de evidenciar captación del precursor DOPA, es posible que en ciertas especies las células insulares tengan impermeabilizada su membrana para incorporar DOPA, pero pudiera no ser así para con el pre-

mer precursor en la cadena de síntesis de catecolaminas, el aminoácido tirosina, el que, desafortunadamente, no puede ser detectado en baja concentración mediante métodos histoquímicos. Podría tratarse también de una muy escasa captación de DOPA, imposible de ser demostrada con la sensibilidad del método de Falck-Hillarp.

Para finalizar con este tema de controversia, el reciente trabajo de Schmechel y col. (1978) sobre la existencia de enolasa en todas las células de los islotes, abona en forma muy consistente el concepto de que estas estructuras forman parte de la serie APUD.

Finalmente, particularizaremos en el páncreas el interrogante sobre el rol funcional de la MA almacenada junto a la hormona. Tratando de atacar el problema, años atrás (Iturriza y Zieher, 1971) repletamos con glucosa endovenosa a cobayos e investigamos sus islotes. Histológicamente pudimos comprobar franca liberación de insulina a partir de las células beta, pero fue imposible demostrar ningún cambio en el contenido de serotonina. Recientemente, Gylfe (1978) encuentra en el ratón que la administración de precursores radiactivos induce la síntesis de serotonina en los islotes, la que frente al estímulo de glucosa es conjuntamente liberada con la insulina, un hecho fácil de aceptar si se recuerda la coexistencia de la MA-hormona en el mismo gránulo de secreción.

Por otra parte, en el cobayo, la depleción de las MA de los islotes inducida a través de la administración de reserpina no produce ningún cambio significativo en la liberación de gránulos de insulina (Iturriza, 1972).

El interrogante sobre la función de las MA en el sistema APUD sigue en pie y la investigación de este problema ofrece un fascinante campo temático para futuros estudios.

## BIBLIOGRAFIA

- CEGRELL, L.: *Acta Physiol. Scand. Suppl.*, 314, 1968.  
CEGRELL, L.; FALCK, B., y ROSENGREN, A. M.: *Acta Physiol. Scand.*, 77:23, 1969.  
DAYAN, A. D.: *Acta Histochem.*, 28:186, 1967.  
FALCK, B., y HELLMAN, B.: *Acta Endocr.*, 45:133, 1965.  
FALCK, B., y OWMAN, Ch.: *Acta Univ. Lund.*, Nº 7, 1965.  
FONTAINE, J.; LE LIEVRE, C., y LE DOUARIN, N. M.: *Gen. Comp. Endocr.*, 33:394, 1977.  
GAGLIARDINO, J. J.; ITURRIZA, F. C.; HERNANDEZ, R. E., y ZIEHER, L. M.: *Endocrinology*, 87:823, 1970.  
GYLFE, E.: *J. Endocr.*, 78:239, 1978.  
ITURRIZA, F. C.; ZIEHER, L. M., y MAINETTI, J. M.: *J. Clin. Endocr.*, 31:580, 1970.  
ITURRIZA, F. C., y ZIEHER, L. M.: *Acta Physiol. Latinoam.*, 21:121, 1971.  
ITURRIZA, F. C.: Observaciones no publicadas, 1972.  
ITURRIZA, F. C., y GAGLIARDINO, J. J.: Observación no publicada, 1973.  
ITURRIZA, F. C.; RUBIO, H., y MAINETTI, J. M.: En redacción, 1980.  
JAIM ETCHEVERRY, G., y ZIEHER, L. M.: *Experientia*, 24:593, 1968  
JAIM ETCHEVERRY, G., ZIEHER, L. M.: *Endocrinology*, 83:917, 1968 a.  
LARSON, B.; OWMAN, Ch., y SUNDLER, F.: *Endocrinology*, 78:1109, 1966.  
LE DOUARIN, N., y LE LIEVRE, C.: *C. R. Assoc. Anat.*, 152:558, 1971.  
LEGG, P. G.: *Z. Zellforsch.*, 88:487, 1968.  
PEARSE, A. G. E.: *Nature*, 211:598, 1966.  
PEARSE, A. G. E.: En "Succellular organization and function in endocrine tissues". H. Heller y K. Lederis edit., Cambridge Press, pág. 543, 1971.  
PEARSE, A. G. E.: *Federation Proc.*, 38:2288, 1979.  
PRIETO DIAZ, H. E.; ITURRIZA, F. C., y RODRIGUEZ, R. R.: *Acta Anat.*, 67:291, 1967.  
SCHMECHEL, D.; MARANGOS, P. J., y BRIGHTMAN, M.: *Nature*, 276:834, 1978.  
TAKOR TAKOR, T., y PEARSE, A. G. E.: *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 34: 311, 1975.