

1) Título:

Páncreas: diferencias microestructurales y de indicadores funcionales

2) Resumen:

Se estudiaron comparativamente el páncreas de dos poblaciones de terneros de crianza artificial, una de ellas recibió como alimentación sustituto lácteo y la otra el producto Ruter®. Se utilizaron técnicas de rutina y una de características histoquímicas las mostraron algunas diferencias significativas en algunos de los indicadores seleccionados manifestando un mejor crecimiento de las partes exócrinas y endócrinas a favor de la población que fue alimentada con Ruter®

Este estudio fue complementado con la comparación de porciones importantes del tubo digestivo (esófago, estómago, duodeno, yeyuno y VIC), de hígado y riñón.

Para la comprensión de la presente monografía es necesario remitirse a los trabajos que describen los resultados obtenidos en todos los órganos estudiados dada la íntima relación que todos tienen entre sí funcionalmente.

Con todo, es nuestro propósito ahondar más en el estudio de este olvidado órgano mediante la utilización de técnicas de inmunohistoquímica.

3) Introducción:

Ubicado a la derecha del plano medio de la parte anterior de la cavidad abdominal, el páncreas posee un lóbulo derecho (más voluminoso) y un lóbulo izquierdo. La unión de los dos lóbulos junto al lado derecho de la vena porta conforma lo que se considera el cuerpo del órgano el que está adherido por tejido conectivo al hígado, al conducto biliar y al duodeno. El lóbulo izquierdo se inserta dorsalmente con el omento mayor, su extremidad izquierda está en contacto con el pilar del diafragma y con el saco dorsal del rumen; ventralmente se relaciona con el rumen y el intestino. El lóbulo derecho se une hacia caudal con el duodeno por medio del mesoduodeno, dorsalmente se relaciona con el hígado y ventralmente con el intestino delgado y el colon.

El conducto pancreático accesorio se origina en el lóbulo derecho y desemboca en el duodeno un poco más adelante que el conducto biliar. A veces está presente un conducto pequeño que proviene de la porción izquierda y que se une al conducto biliar cuando este se contacta con la glándula. De allí que en algunos individuos parte de la producción pancreática se excreta junto a la bilis.

Su aporte sanguíneo oxigenado es variado e importante: recibe ramas de la arteria celíaca de modo directo y a través de sus ramas (gástrica izquierda, hepática y esplénica). Además existe una arteria pancreátoduodenal: rama de la gastroduodenal. Finalmente recibe sangre arterial aportada por la mesentérica craneal por medio de una rama llamada pancreátoduodenal caudal.

La sangre venosa se drena por la vena pancreática a las venas porta y esplénica.

El sistema nervioso autónomo depende del plexo celíaco y de ramas del vago dorsal.

En el feto el páncreas se origina de dos esbozos del revestimiento endodérmico del duodeno. El esbozo pancreático derecho se sitúa en el mesenterio y el izquierdo guarda relación con el conducto del colédoco. Posteriormente se fusionan y conforman lo que será el cuerpo de la glándula. La porción endócrina (islotes) se desarrollan a partir del mismo tejido parenquimatoso pancreático y se estima que la secreción de insulina en el feto comienza pasada la mitad de la gestación. El tenor de insulina del feto es independiente del de la madre por lo que es poco probable que la insulina atraviese la barrera placentaria.

Está rodeado por una capa fina de tejido conectivo. Delgados tabiques de tejido conectivo dividen a la glándula en lobulillos. Inmersos en estos tabiques se encuentran los conductos interlobulillares y el o los conductos excretorios

Microestructuralmente el páncreas es una glándula mixta: con funciones exócrinas y endócrinas. La parte exócrina contiene acinos serosos que forman el jugo pancreático. La parte endócrina se compone de las células de los islotes de Langerhans que producen las hormonas insulina y glucagón.

Es una glándula tubuloacinososa. Los acinos son redondeados u ovals y se componen de una única capa de células epiteliales piramidales con el ápice hacia la luz y el núcleo en la parte basal. La parte apical está llena de gránulos de zimógeno (gránulos de secreción).

El sistema de conductos excretores en su primera porción llega hasta el centro del acino y están formados por las células centroacinosas. Esto es el comienzo de los conductos intercalares intralobulillares, que se vacían en vías interlobulillares mayores y éstos se vuelcan en uno o dos conductos excretores principales. El conducto pancreático accesorio recorre toda la glándula y recibe las vías interlobulillares. El conducto pancreático pequeño (cuando existe) recibe afluentes de la parte inferior del órgano, se vacía con el colédoco.

En el bovino los conductos interlobulillares y pancreáticos están tapizados por un epitelio simple de tipo cúbico a cilíndrico asentado en una basal, la pared contienen fibras musculares lisas que seguramente actúan como impulsoras de la secreción hacia el duodeno.

Las células endócrinas están reunidas en pequeños grupos, los islotes de Langerhans, que aparecen dispersos entre el tejido exócrino. Se encuentran rodeados por una fina malla de fibras reticulares y se encuentran muy vascularizados. La trama reticular acompaña y sostiene a la capilarización siendo la única estructura que separa la membrana celular secretoria con la basal fenestrada de los capilares.

Una particularidad del modelo circulatorio del páncreas es que la capilarización arterial recorre primero los islotes y luego se deriva y baña los acinos exócrinos. Esto hace que las células secretorias de jugo pancreático sean en el organismo las que reciben la sangre con más alto tenor hormonal de insulina y glucagón. Se ha comprobado que este hecho influye en el trofismo y funcionalidad exócrina de modo estimulante.

Las células de los islotes poseen una baja apetencia a los colorantes de rutina. Con la utilización de coloraciones especiales y con la utilización de inmunohistoquímica se ha podido determinar que están compuestos por varios modelos celulares. Las denominadas células alfa secretan glucagón, las células beta (las más numerosas) producen la insulina, las células delta somatostatina y las células F el polipéptido pancreático. Además se han detectado células del sistema APUD, especialmente en el cuerpo de la glándula que segregan polipéptidos activos, especialmente la serotonina que ha sido reconocida como el mediador químico del sistema nervioso autónomo gastrointestinal.

El jugo pancreático, secretado en los acinos provee las enzimas digestivas: tripsina, quimiotripsina, carboxipeptidasas, ribonucleasas y desoxiribonucleasas. Las tres primeras degradan proteínas a aminoácidos, las otras dividen las nucleoproteínas.

Se ha reconocido una amilasa pancreática que hidroliza al almidón, glucógeno y el resto de los hidratos de carbono y una lipasa pancreática que lleva a los triglicéridos al nivel de glicerol y ácidos grasos.

Las enzimas proteolíticas son sintetizadas y secretadas como proenzimas inactivas que se activan en la luz intestinal por las enteroquinasas.

En el interior de las células acinosas las enzimas se encuentran bajo la forma de precursores inactivos dentro de los gránulos de zimógeno rodeados de una membrana que impide la autodigestión de la glándula. La posibilidad de escapes de tripsimógeno que pudiera ser activado a tripsina en los conductos por acción de por ejemplo mediadores inflamatorios es parcialmente frenado por la producción de una enzima inhibidora de la tripsina.

La tripsina media como activador de las otras proenzimas proteolíticas.

El contenido de bicarbonato del jugo pancreático es secretado junto con grandes cantidades de agua por las células centroacinosas y por las células del resto del sistema de conductos.

La regulación de la secreción exócrina es en parte hormonal y en parte nerviosa, siendo la más importante la primera, la cual es mediada por las hormonas secretina y CCC liberadas por las células epiteliales del intestino delgado en presencia del quimo ácido y con alto contenido de proteínas. La secretina estimula la secreción del jugo pancreático y la CCC la producción de enzimas digestivas y el vaciamiento de la vesícula biliar.

La regulación nerviosa es mediada por fibras parasimpáticas y simpáticas de la glándula. La estimulación parasimpática, ya sea vía nervio vago o por la acción de sustancias colinérgicas produce la secreción de enzimas. La porción aferente de este reflejo se produce por medio de las fibras vagales del estómago, puesto que su distensión produce la secreción. La estimulación PS del páncreas aumenta la sensibilidad a la secretina

Las fibras simpáticas tienen acción inhibitoria sobre la secreción pancreática.

El volumen de jugo pancreático es importante en todas las especies, en el bovino se estima que diariamente en el animal que come se producen entre 14 y 15 centímetros cúbicos por kilo de peso vivo.

Su composición aporta a la luz intestinal abundante cantidad de agua endógena que es requerida para las actividades enzimáticas, bicarbonato que neutraliza la descarga ácida del estómago aportando un jugo con un pH cercano a 8 y su batería de enzimas que terminan de degradar las sustancias orgánicas y las ubican en unidades que pueden ser tomadas por los enterocitos absorbentes completando el ciclo de la digestión y asimilación de nutrientes.

La insulina es una molécula proteica pequeña sintetizada como proinsulina por las células beta. La transformación se produce en el aparato de Golgi y en los gránulos inmaduros. En los gránulos maduros aparece solamente insulina activa, secretada por exocitosis.

La insulina estimula la síntesis de glucógeno, proteínas y ácidos grasos. Estimula el transporte de la glucosa a través de casi todas las membranas celulares. Este transporte se realiza por difusión facilitada. La insulina activa la captación de glucosa por los hepatocitos ante una glucemia elevada debido a la activación de la enzima glucoquinasa, que produce la fosforilación de la glucosa que luego no es capaz de salir por difusión.

El glucagón es un polipéptido pequeño sintetizado por las células alfa. Esta hormona aumenta la concentración de glucosa sanguínea, por un aumento en la degradación del glucógeno en el hígado por activar la enzima fosforilasa-quinasa.

La inervación autónoma de los islotes tiene un efecto de control sobre la secreción hormonal. La estimulación de las fibras parasimpáticas producen un aumento de la secreción de insulina y una inhibición de la secreción de glucagón, mientras que la estimulación de las fibras simpáticas tiene un efecto contrario.

La somatostatina ejerce de modo parácrino una actividad inhibitoria en la secreción de las otras tres hormonas que produce el islote.

El PP, que también se ha detectado como producido en el intestino delgado, el cerebro y en los ganglios del sistema autónomo; es tenido como una suerte de modulador del proceso de absorción intestinal, dando una curva de absorción durante el proceso digestivo con espigas y valles más suavizados. Su secreción es estimulada cuando se produce abundante ingestión de proteínas, durante el ayuno, el ejercicio y la hipoglucemia aguda. La administración de glucosa intravenosa y la ya citada somatostatina inhiben su secreción. Se ha reconocido que también se encuentra bajo control colinérgico ya que su concentración en sangre cae después de la administración de atropina.

4) Materiales y métodos:

El diseño del ensayo que utilizó 37 terneros en estaca de una misma guachera y origen durante los 49 días que duró la experiencia fue el siguiente:

- a) Los animales calostraron durante los cinco primeros días de vida.
- b) Al sexto día se sacrificaron tres animales identificados como "testigos lactantes", y se dividieron los restantes en dos lotes identificados como "testigos con sustituto lácteo" (18 animales) y "terneros Ruter®" (16 animales).
- c) Los testigos con sustituto fueron alimentados con el producto comercial de ACA según sus propias instrucciones (1), y los terneros Ruter® se alimentaron siguiendo las instrucciones del fabricante (2).
- d) El muestreo se efectuó en seis períodos y el plan de necropsias programado es el que se muestra en el siguiente cuadro:

Etapa	Día de ensayo	Testigos lactantes	Testigos con	Terneros Ruter
-------	---------------	--------------------	--------------	----------------

			sustituto lácteo	®
1º	5º	3	0	0
2º	18º	0	3	5
3º	26º	0	2	4
4º	34º	0	3	3
5º	39º	0	3	4
6º	49º	0	7	0
Animales estudiados	Total	3	18	16

- e) Las muestras de páncreas se obtuvieron separando el órgano de sus inserciones mesentéricas realizándose dos cortes transversales en la parte media del largo total de mas o menos un centímetro de ancho que se colocaron en Formol al 10%. Las muestras se entregaron al Laboratorio dentro de las 24 horas de su obtención.
- f) El proceso de laboratorio consistió en reducción de tres piezas por muestra, refijación por 24 horas en Formol al 10% y proceso conducente a la obtención de bloques incluidos en parafina. Se seleccionó un taco y se obtuvieron tres cortes de 3 micrones con 100 micrones de separación entre uno y otro, se montaron en portaobjetos silenizados dobles para someterlos a las coloraciones de Hematoxilina de Mayer – Eosina, Tricómico de Van Gieson e Impregnación Argéntica de Del Río Hortega con y sin reducción con Formol al 1%. Los cortes se observaron en un microscopio trinocular Olympus CX 40 y las imágenes se levantaron con la utilización una cámara digital Olympus C-3000 montada sobre sus adaptadores y se procesaron en el programa Microsoft Photo Editor archivándose bajo formato JPEG. Para efectuar las mediciones se incorporó un retículo micrométrico en uno de los oculares del microscopio.

5) Desarrollo:

Manteniendo la metodología de observación aplicada a todos los órganos que fueron estudiados, se fijaron indicadores de modo estandarizado con la finalidad de obtener información que pudiera ser procesada estadísticamente.

En el caso del páncreas los indicadores medidos son los que se detallan en la siguiente tabla:

Número	Indicador	Parámetro, aumento de observación y técnica utilizada
(I)	Cantidad de islotes de Langerhans por campo	Recuento. Objetivo x 10 Hematoxilina – Eosina
(II)	Diámetro en micrones de los islotes de Langerhans	Medición. Objetivo x 40 Hematoxilina – Eosina
(III)	Evaluación de la granulación zimógena exócrina	Observación objetiva (1) Leve (2) Moderada (3) Marcada Objetivo x 40 Impregnación Argéntica de Del Río Hortega con reducción con Formol al 1%.
(IV)	Cantidad de células argentófilas por campo en los islotes de Langerhans por campo	Recuento. Objetivo x 100 Impregnación Argéntica de Del Río Hortega con reducción con

		Formol al 1%.
(V)	Cantidad de células argentafines por campo en los islotes de Langerhans por campo	Recuento. Objetivo x 100 Impregnación Argéntica de Del Río Hortega sin reducción

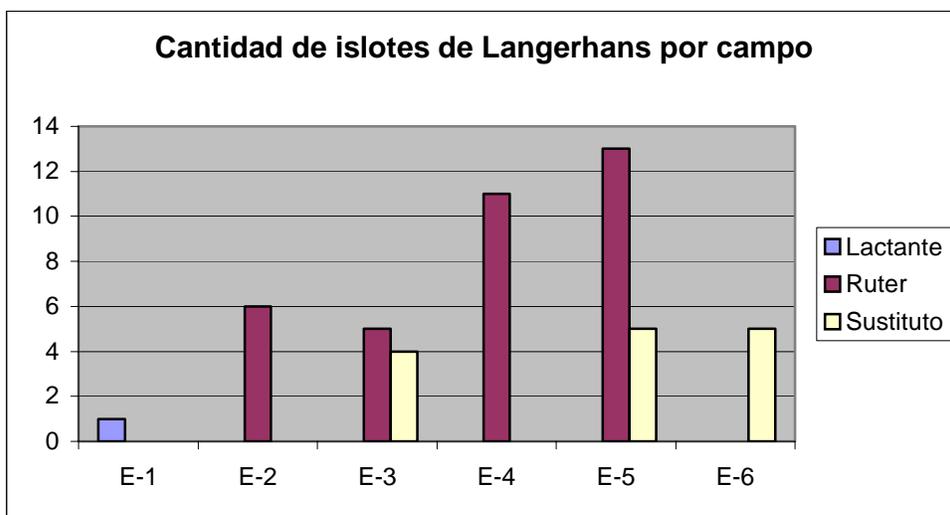
Los resultados de las observaciones estandarizadas se registran en el siguiente cuadro:

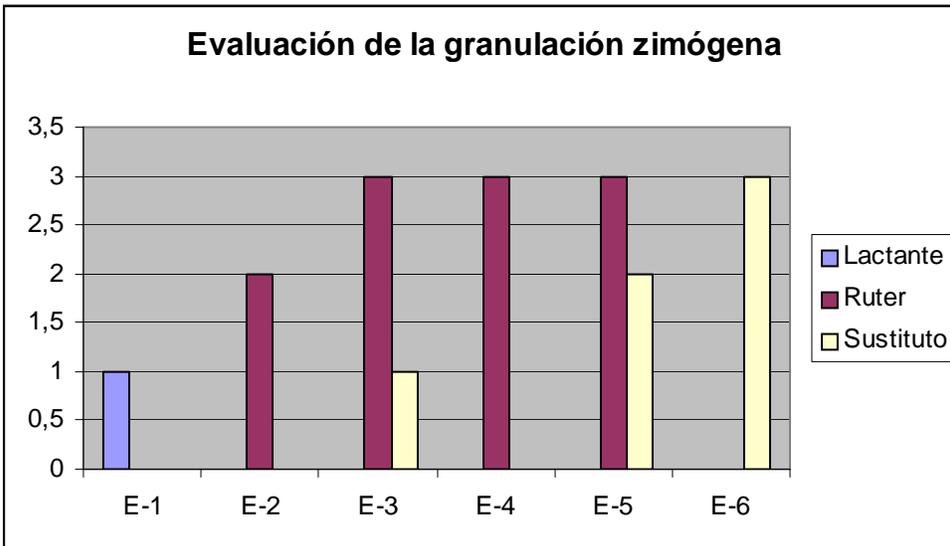
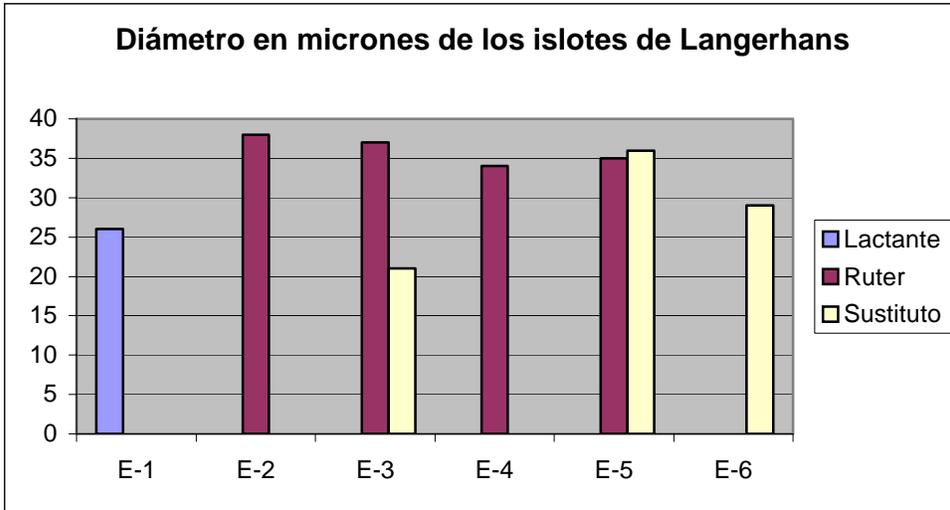
Indicador	Etapa										
	1º	2º		3º		4º		5º		6º	
	Lactante	SL	R	SL	R	SL	R	SL	R	SL	R
(I)	1	S/I (1)	6	4	5	S/I (1)	11	5	13	5	
(II)	26	S/I (1)	38	21	37	S/I (1)	34	36	35	29	
(III)	1	S/I (1)	2	1	3	S/I (1)	3	2	3	3 (2)	
(IV)	0		0	0	0	S/I (1)	1	0	2	0	
(V)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

(1) El material remitido no posee tejido glandular y está conformado por tejido conjuntivo laxo y adiposo.

(2) En seis de siete muestras, la restante categoría moderada.

Los valores de los indicadores (I), (II) y (III) se grafican en los siguientes cuadros:





6) Discusión y conclusiones:

Pocas veces el páncreas integra la batería de órganos enviados para el estudio histopatológico, sobre todo en bovinos. En nuestra casuística en general nos es remitido cuando, en caninos o felinos se desarrollan patologías en las que tiene, por sus funciones un papel central; ejemplo diabetes y necrosis pancreática aguda. A veces en aves se lo tiene en cuenta cuando se sospecha Encefalitis viral o Temblor Epidémico pues allí se encuentran lesiones que pueden considerarse patognomónicas.

Convengamos que hasta en los programas curriculares universitarios ocupa un lugar secundario y solo en fisiología digestiva y endócrina aparece, pero luego; es olvidado en materias de aplicación como pueden ser nutrición y patología.

Históricamente ha sido así; a tal punto que la escuela alemana lo denominaba en los textos, hasta no hace mucho, "glándula salival abdominal" por cierta similitud morfológica con la parótida.

La íntima relación del páncreas con el intestino delgado a través de las hormonas entéricas y con el estómago por vía neuroendócrina indican que no merece estar de modo tan periférico en la consideración veterinaria.

Es cierto que un animal puede vivir sin secreción de jugo pancreático cuando el mismo es eliminado quirúrgica, medicamentosa o patológicamente.

Pero también es importante tener en cuenta que el animal cae en un síndrome de mala absorción mas o menos marcada.

La pregunta que nos hemos hecho es ¿y cual es el nivel de importancia de tiene el páncreas cuando se dan estados de sub – mala absorción en nutrición animal que luego se reflejan en diferencias en la tasa de crecimiento y en la ganancia de peso?

El páncreas es un órgano rudimentario al momento del nacimiento, inclusive en nuestras necropsias puede verse que en dos de las etapas su crecimiento era tan poco evidente en animales que consumían sustituto lácteo que el procesamiento histológico lo único que identificó fue tejido conjuntivo aereolar y tejido conjuntivo graso.

Los indicadores por nosotros seleccionados apuntaron a marcar – con las limitaciones que tienen las técnicas aplicadas – la existencia de diferencias tanto en la parte exócrina como en la endócrina del órgano.

La carga de zimógeno evaluada por intensidad de granulación intracitoplasmática fue marcada y constante en todas las etapas de muestreo de los terneros que recibieron Ruter®; solo fueron alcanzadas por la otra población en la terminal etapa seis.

Los islotes endócrinos pancreáticos se encuentran preexistentes en el órgano al momento del nacimiento. Pero su visualización con las técnicas de rutina con objetivos en seco no es posible. El crecimiento de los mismos se produce de modo proporcional por un efecto de causalidad fisiológica: un más activo metabolismo hidrocarbonado requiere de mayor volumen de hormonas relacionadas y un mejor funcionamiento gastrointestinal demanda (eso intuimos y estamos investigando) un mayor aporte de péptidos activos por parte del páncreas como parte del integrado sistema APUD.

El vigoroso crecimiento anatómico (luego corroborado histologicamente) de órgano en los animales que recibieron Ruter®, respecto a los que se alimentaron con sustituto lácteo tiene las siguientes explicaciones en las que ineludiblemente relacionamos con los resultados obtenidos en otros órganos que integraron el estudio completo.

Los factores que hemos identificado como importantes son:

- 1) Las características del alimento por ser sólido provoca una plétora gástrica que por vía vagal y nueroendócrina estimula la secreción zimógena, de bicarbonato de sodio y de agua.
- 2) Un estado gástrico de mejor desarrollo glandular y con ausencia de reacciones sub – clínicas de gastritis hace que la entrega del quimo al duodeno sea fuertemente ácido y con proteínas degradadas enzimáticamente. Esta cuestión como estímulo a la secreción pancreática ha sido vastamente demostrada experimentalmente.
- 3) Del mismo modo un epitelio superficial de absorción más íntegro y numeroso en el intestino delgado (duodeno y yeyuno) y un crecimiento celular mejor diferenciado a nivel glandular lleva a una mejor tasa de aprovechamiento de los nutrientes y a una mejor producción de imprescindibles hormonas gastroentéricas.

Desde los antiguos ensayos de Pavlov quedó demostrado que la secreción gástrica y pancreática se iniciaban con una estimulación anterior al acto alimentarse y dependían del control y estímulo a nivel encefálico.

Debemos por otro lado recordar que a partir de este olvidado órgano y de los trabajos que sobre él hicieron Bayliss y Starling en 1902 nació para la biología el término y el contenido de lo que hoy denominamos “hormona”.

Esto antiguos trabajos nos han hecho reflexionar sobre la necesidad de dar al estudio en nutrición animal un enfoque distinto.

Por un lado están los requerimientos, por otra parte los cambios morfológicos del aparato digestivo y finalmente la enmarañada red de relaciones neurohormonales que tanto a nivel central como periférico parecen comandar la digestión y absorción de alimentos.

Autores:

Dres. Alejandro Lis (Coordinador) y Fernando Barra (Prueba a campo y necropsias) – Profesionales de la Asociación de Cooperativas Argentinas – San Nicolas (Pcia. de Buenos Aires)

Ing. Ago. Félix Beltramino (Tratamiento estadístico) – Cátedra de Genética y Mejoramiento Animal – Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Litoral – Esperanza (Pcia. de santa Fe)

MV Carlos J. Peralta y Vet. Paula Rejf (Estudio histológico) – Laboratorio de Cito e Histopatología - Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Litoral – Esperanza (Pcia. de santa Fe)

Esperanza, 29 de marzo de 2003.