

**DIÂMETRO DAS ILHOTAS PANCREÁTICAS DO GAMBÁ *Didelphis albiventris* EM DESENVOLVIMENTO INTRAMARSUPIAL**  
**(Pancreatic islets diameter of the intramarsupial developing opossum *Didelphis albiventris*)**

**FONSECA, C.C.<sup>1</sup>; NOGUEIRA, J.C.<sup>2</sup>; BARBOSA, A.JÁ.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Depto. de Veterinária, CCBS, UFV, Av. PH Rolfs s/n, Viçosa, MG, Brasil, CEP 36571-000, E-mail: fonseca@mail.ufv.br;

<sup>2</sup>Depto. de Morfologia, ICB, UFMG, Belo Horizonte, MG, Brasil;

<sup>3</sup>DAPML, Faculdade de Medicina, UFMG, Belo Horizonte, MG, Brasil.

**RESUMO** – Visando fornecer o diâmetro e a área de ilhotas pancreáticas do gambá *D. albiventris*, para estudos de transplantes endócrinos exógenos de pâncreas com prováveis perdas celulares endócrinas, e decorrentes de patologias e envelhecimento dos animais, procedeu-se ao estudo morfométrico das ilhotas deste marsupial. Foram obtidos o diâmetro médio, a partir de dois principais diâmetros, e o raio de cada ilhota da região esplênica do pâncreas de filhotes de gambá em desenvolvimento pelos terços médio e final de vida marsupial. O diâmetro não variou entre as fases citadas, mas a área de ilhota diminuiu significativamente naqueles animais do terço médio para os do terço final de vida marsupial. Naqueles do terço médio foi observada variação significativa na área de ilhota, não havendo, entretanto, variação entre os animais de maior e menor comprimentos. Entre os do terço final de vida intramarsupial foram observadas oscilações na área de ilhota havendo, entre os animais de maior e menor comprimento CR, uma diminuição significativa da mesma. Os resultados indicam que o diâmetro das ilhotas pancreáticas do *D. albiventris*, além de pequeno em relação ao da cobaia, diminui nos filhotes ao desmame.

**Palavras chave:** diâmetro das ilhotas pancreáticas, gambá, *Didelphis albiventris*.

**ABSTRACT** – Envisaging studies regarding exogenous endocrine transplants of pancreas with probable endocrine cellular losses also as a consequence of the aging and of different pathological conditions, a research has been carried out in order to measure by means of morphometric techniques, both the diameter and the area of pancreatic islet from the opossum *Didelphis albiventris*. The values for the average of the main diameters and the radius of each islet of the pancreatic splenic region of the opossum fetuses in development - from the third medium and the final of marsupial life - were then established. The diameter of the pancreatic isles did not vary between that phases of the fetuses development, but the area of the islets significantly diminished from the animals of the medium third up to the final third of the marsupial life. Significant variation has been found in regard to the area of the islets in those fetuses of the final third of intramarsupial life but not in regard to their body size. Among fetuses of the final third of marsupial life, it has been observed the same oscillations in the size of the islets area. Furthermore, between greater and smaller animals of this same phase, a significant reduction in the area of the pancreatic islets has been found. These results allow the conclusion that the diameter of the *Didelphis albiventris* pancreatic islets, besides being smaller in regard to the guinea pig ones, decreases in size in the young pouch opossum of the final third of intramarsupial life period.

**Key words:** pancreatic islets diameter, opossum, *Didelphis albiventris*.

### **Introdução**

Relatos de quantificação e morfometria de ilhotas pancreáticas de vertebrados

têm sido feitos por vários autores, com diferentes finalidades. WARNOCK *et al.* (1990), visando verificar a qualidade de doadores de pâncreas humano e de cães,

verificaram que as ilhotas pancreáticas apresentaram tamanho médio de 150  $\mu\text{m}$ , estimando em cerca de 5.345 ilhotas/g de tecido pancreático. CARNAZZO *et al.* (1993) de maneira semelhante, após verificar o diâmetro médio das ilhotas pancreáticas de porco as quantificaram em  $2.240 \pm 613$  ilhotas/g de tecido pancreático. TAKEI *et al.* (1994), reportaram que as ilhotas pancreáticas de porco e de homem variaram de 50 a 200  $\mu\text{m}$  de diâmetro e que cerca de 20% das ilhotas apresentaram 200  $\mu\text{m}$  de diâmetro, tanto no homem quanto no porco.

HAYECK e WOODSIDE (1979) correlacionaram o tamanho das ilhotas com as secreções de insulina e glucagon pelo pâncreas, arbitrariamente definindo ilhotas grandes ( $> 0,45$  mm) e ilhotas pequenas ( $< 0,12$  mm), as primeiras produzindo mais insulina que as últimas enquanto que estimuladas por arginina as ilhotas pequenas liberam mais glucagon que as ilhotas grandes de ratos obesos.

EL NAGGAR *et al.* (1993) visando fornecer subsídios para estudos de transplante de ilhotas pancreáticas, verificaram diferentes tamanhos de ilhotas, salientando que durante o isolamento das mesmas ocorria perda celular principalmente na região periférica, com conseqüente redução de seu diâmetro. Tal diferença de diâmetros acarretada pela perda celular poderia provocar um controle metabólico incompleto e recorrência de hiperglicemia após transplante de ilhotas pancreáticas isoladas em ratos. HERING *et al.* (1989) descreveram métodos de quantificação de ilhotas pancreáticas de bovinos no intuito de verificar uma nova fonte potencial de transplante de porções endócrinas de pâncreas.

JINDAL *et al.* (1992) afirmaram que a quantificação de ilhotas pancreáticas é de extrema importância para estabelecimento de comparações interlaboratoriais, antes de se tentar executar um transplante de tecido pancreático. Identificou, em ratos, a presença de ilhotas, que apresentaram diâmetro médio de 250  $\mu\text{m}$ , detectadas por imunofluorescência pela presença de zinco.

KLENSANG *et al.* (1997) ao

caracterizarem determinadas patologias neonatais no homem, verificaram que o volume máximo e o diâmetro das ilhotas pancreáticas não se alteravam.

KAIHOH *et al.* (1986), identificaram a presença de ilhotas pequenas e grandes no pâncreas humano e verificou serem as pequenas em número muito maior que as grandes, embora representassem pequena porcentagem no volume de ilhotas. Inversamente, as ilhotas grandes embora em menor número, mas em maior volume, desempenhavam a maior parte das funções endócrinas do pâncreas.

No sentido de verificar se os hormônios de crescimento e lactogênicos afetavam as ilhotas pancreáticas, PARSONS *et al.* (1995) quantificaram numericamente essas ilhotas e obtiveram a área e volume das mesmas, em ratos transgênicos e em gestação.

COLELLA *et al.* (1985) relacionaram diferentes tamanhos de ilhotas pancreáticas com a quantidade de utilização de glicose, verificando que as maiores ilhotas utilizavam mais glicose que as menores, embora a produção de insulina não apresentasse o mesmo comportamento.

De maneira inversa REAVEN *et al.* (1981) correlacionaram o diâmetro, área e volume das ilhotas pancreáticas indicando que o aumento nas dimensões acarreta em maior produção de insulina pelas ilhotas. Enfatizaram que, a medida do diâmetro das ilhotas fornece solução fácil para se verificar ou mesmo prever a quantidade de secreção de insulina em estudos com ilhotas isoladas.

Durante a formação do pâncreas a partir de brotamentos ventral e dorsal, SUDA *et al.* (1981), estudando a morfologia do pâncreas, verificaram que as ilhotas pancreáticas observadas nas regiões derivadas do brotamento ventral apresentavam formas irregulares, distintas daquelas arredondadas vistas na região duodenal.

WHITE *et al.* (1999) procuraram avaliar diferenças nos diâmetros de ilhotas, no sentido de identificar densidades diferentes de insulina nos pâncreas de porcos Large-white jovens e adultos.

Objetivando o fornecimento de dados de diâmetro e área de ilhotas pancreáticas do gambá *Didelphis albiventris*, no sentido de subsidiar estudos relacionados com transplantes endócrinos exógenos, e com perdas celulares endócrinas pancreáticas

que podem ocorrer nestes tipos de transplantes, como também em perdas decorrentes de patologias e do envelhecimento dos animais, procedeu-se ao estudo morfométrico das ilhotas pancreáticas desta espécie de marsupial.

TABELA 1 – DIÂMETRO E ÁREA DAS ILHOTAS DA REGIÃO ESPLÊNICA DO PÂNCREAS DO GAMBÁ *D. ALBIVENTRIS* EM DESENVOLVIMENTO. BELO HORIZONTE, MG. 2002.

Animal	Comprimento CR	Período intramarsupial	Ilhotas medidas	Diâmetro médio ( $\mu\text{m}$ )	Área ( $\mu\text{m}^2$ )
1	6,0	1/3 médio	5	$84 \pm 6$	$5.541 \pm 180^a$
2	7,1	1/3 médio	5	$64 \pm 19$	$3.217 \pm 283^c$
3	9,2	1/3 médio	7	$130 \pm 84$	$13.273 \pm 5541^d$
4	9,1	1/3 médio	10	$73 \pm 19$	$4.185 \pm 295^b$
5	9,0	1/3 médio	9	$86 \pm 16$	$5.808 \pm 201^a$
$\bar{x}$	$8,1 \pm 1,4$	-----	$7,2 \pm 2,2$	$87,4 \pm 28,8$	$6.404,8 \pm 1.320,6$
6	10,2	1/3 final	10	$91 \pm 27$	$6.503 \pm 572^e$
7	10,1	1/3 final	10	$93 \pm 23$	$6.792 \pm 415^e$
8	11,8	1/3 final	10	$78 \pm 26$	$4.778 \pm 531^d$
9	11,8	1/3 final	10	$57 \pm 20$	$2.552 \pm 314^b$
10	11,4	1/3 final	5	$62 \pm 16$	$3.019 \pm 201^b$
11	12,9	1/3 final	10	$73 \pm 18$	$4.185 \pm 254^d$
12	13,0	1/3 final	10	$73 \pm 19$	$4.185 \pm 283^d$
13	13,0	1/3 final	10	$89 \pm 21$	$6.221 \pm 346^c$
14	13,2	1/3 final	10	$75 \pm 22$	$4.417 \pm 380^d$
$\bar{x}$	$11,9 \pm 1,2$	-----	$9,4 \pm 1,6$	$76,9 \pm 21,3$	$4.639,5 \pm 366,2$

Letras sobrescritas diferentes indicam variação estatística significativa,  $p \leq 0,05$

### Material e Métodos

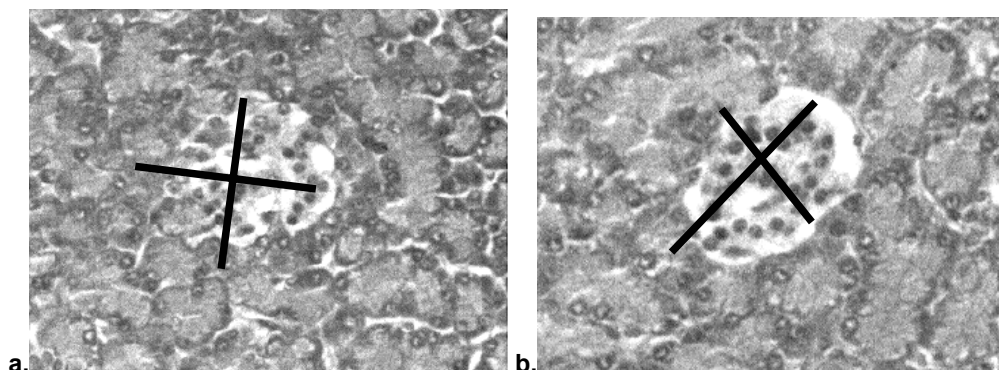
Foram coletados fragmentos da região esplênica do pâncreas de 14 filhotes de gambá em desenvolvimento pelos terço médio e final da vida intramarsupial até a saída da bolsa (capturados sob licença do IBAMA-MG, documentos nos. 003/92, 028/93). Os fragmentos foram fixados em líquido de Bouin, desidratados, diafanizados, embebidos em parafina e seccionados a quatro  $\mu\text{m}$  de espessura. As secções foram coradas em Hematoxilina-Eosina e examinados ao microscópio óptico Baush & Lomb, American Optical Co., em aumento de 400X. Foram mensuradas 10 ilhotas pancreáticas por fragmento, com três repetições, por meio de ocular

micrométrica graduada, calibrada com o micrômetro objetivo (Leitz, Wetzlar), sendo obtidos os dois principais diâmetros (FIGURA 1 a, b) de cada ilhota pancreática para o cálculo do diâmetro médio. A área de cada ilhota foi calculada a partir do raio médio de cada uma delas.

### Resultados

A observação dos resultados obtidos indicou que o diâmetro médio das ilhotas pancreáticas não variou significativamente entre as fases de desenvolvimento dos gambás estudados (correspondentes aos terços médio e final de vida intramarsupial).

FIGURA 1 – ILHOTAS PANCREÁTICAS EM MEIO AO PARÊNQUIMA EXÓCRINO, COM DIÂMETROS SEMELHANTES (a) E DIFERENTES (b). HE. 400X.



Entretanto, a área de ilhota (contendo células endócrinas, tecido conjuntivo e vasos sanguíneos) diminuiu significativamente no pâncreas daqueles animais do terço médio para aqueles do terço final de gestação (TABELA 1), embora o animal de 9,2 cm CR apresentasse uma área muito maior em relação aos de mesmo período e aos de maior duração de vida intramarsupial (TABELA 1). No grupo em desenvolvimento pelo terço médio de gestação foi observado que houve, entre os animais, variação significativa na área de ilhota, embora esta variação não tenha sido significativa entre os animais de maior e menor comprimentos CR. Entre os animais situados no terço final de gestação foram observadas variações na área de ilhota e entre os animais de maior e menor comprimento CR houve uma diminuição significativa da referida área (TABELA 1).

#### Discussão e conclusões

Os resultados indicaram uma diminuição do diâmetro médio das ilhotas pancreáticas (de 87 para 77  $\mu\text{m}$ ) dos filhotes de gambá, do terço médio para o terço final do período intramarsupial, embora FONSECA (1996) indicasse que o número das principais células endócrinas das ilhotas aumente de 19,1 para 23,1 (produtoras de glucagon) e de 36,7 para 38,8 (produtoras de insulina) células/ilhota, no mesmo período de vida.

Uma vez que a proporção de tecido conjuntivo pancreático diminui do animal jovem para o animal adulto (FONSECA, dados não publicados) essa redução do diâmetro das ilhotas pode ser devido a diminuição conjuntiva e não ao número de células endócrinas.

Entretanto, uma das mais diretas inferências sobre o tamanho das ilhotas reside no fato de quanto maior for o diâmetro e, por conseguinte a área das mesmas, maior será a secreção de insulina (REAVEN *et al.*, 1981). HAYECK e WOODSIDE (1979) citaram que em ratos obesos com hiperinsulinismo, ocorre hipertrofia de ilhotas pancreáticas, podem estas ser classificadas como grandes (maiores de 450  $\mu\text{m}$  de diâmetro) ou pequenas (menores de 120  $\mu\text{m}$  de diâmetro). Esses autores citaram ainda que a secreção de insulina aumenta diretamente em função do aumento de tamanho das ilhotas.

De maneira inversa, ilhotas pancreáticas de ratos tratadas com radiação apresentaram menor secreção de insulina, embora o conteúdo de insulina e glucagon tenha permanecido inalterado nas mesmas (HEINZMANN *et al.*, 1983). A provável causa para que isso ocorra talvez seja pela diminuição do número de células produtoras desse hormônio.

Existem relatos na literatura que correlacionam o tamanho das ilhotas pancreáticas com a variação de secreção dos hormônios pancreáticos e

conseqüentemente com a potencialidade para doação de ilhotas pancreáticas no xenotransplante. GRAY *et al.* (1998) atribuem aos roedores como os cobaios, grande potencial como doadores de ilhotas pancreáticas, uma vez que apresentam ilhotas de grande diâmetro (cerca de 150  $\mu\text{m}$ ). De maneira inversa, esses autores concluíram que a capivara não se mostrou um bom doador uma vez que suas ilhotas pancreáticas são pequenas e de difícil separação do tecido exócrino.

Enfocando o aspecto morfológico, verificamos que além do pâncreas do gambá *D. albiventris* não apresentar ilhotas pancreáticas classificadas como grandes durante o terço médio de vida intramarsupial ( $87,4 \pm 28,8 \mu\text{m}$ ), estas diminuem de tamanho ( $76,8 \pm 21,3 \mu\text{m}$ ) próximo ao desmame. As células argirófilas, as produtoras de glucagon e as produtoras de insulina, entretanto, aumentam em número durante o mesmo período intramarsupial (FONSECA, 1996). Semelhante relato é descrito para o porco por WHITE *et al.* (1999) quando citaram que o diâmetro médio das ilhotas pancreáticas de porcos jovens é de 87  $\mu\text{m}$  enquanto que em adultos diminui para 80  $\mu\text{m}$ .

Podemos concluir que o diâmetro médio das ilhotas pancreáticas do gambá *D. albiventris*, além de pequeno em relação ao das ilhotas pancreáticas de cobaio, diminui nos filhotes ao desmame. Dessa maneira acreditamos que não deva ser utilizado como doador de ilhotas pancreáticas, como também não o são o porco e a capivara, diferentemente dos pequenos roedores como o cobaio e o rato.

### Referências

- CARNAZZO S.A.; LANTERI R.; PETINO A.G.; FAVETTA A.; DISTEFANO A.M.; STIVALA F.; LATTEI E. A simplified method of pig islet isolation. **Italian Journal of Gastroenterology**, Rome, v. 25, n. 6, p. 314-317, 1993.
- COLELLA, R.M.; BONNER-WEIR, S.; BRAUNSTEIN, L.P.; SCHWALKE, M.; WEIR, C.G. Pancreatic islets of variable size-insulin secretion and glucose utilization. **Life Science**, New York, v. 37, n. 11, p. 1059-1065, 1985.
- EI NAGGAR, M.M.; ELAYAT, A.A.; ARDAWI, M.S.; TAHIR, M. Isolated pancreatic islets of the rat: an immunohistochemical and morphometric study. **Anatomical Record**, New York, v. 237, n. 4, p. 489-497, 1993.
- FONSECA, C.C. **Identificação imunocitoquímica e ultraestrutural das células produtoras de glucagon no pâncreas e nas mucosas do corpo do estômago, do íleo e do cólon durante o desenvolvimento do gambá *Didelphis albiventris* Lund, 1841 (Marsupialia)**. Belo Horizonte, 1996. 176p. Tese (Doutorado em Morfologia), Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais.
- FONSECA, C.C. **Comunicação Pessoal**, 2000.
- GRAY, D.W.R.; CAHILL, A.; ASAKURA, T.; MORRIS, P.J. Investigation of a large, commercially farmed rodent (Capybara) as a potential donor for pancreatic islet xenotransplantation. **Transplantation Proceedings**, New York, v. 30, p. 460-462, 1998.
- HAYECK, A.; WOODSIDE, W. Correlation between morphology and function in isolated islets of the sucker rat. **Diabetes**, Alexandria, v. 28, n. 6, p. 565-569, 1979.
- HEINZMANN, D.; NADROWITZ, R.; BESCH, W.; SCHMIDT, W.; HAHN, H.J. Decreased of glucagon-induced insulin secretion of pancreatic rat islets after irradiation *in vitro*. **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes**, Leipzig, v. 81, n. 1, p. 94-97, 1983.
- HERING, B.J.; ROMANN, D.; CLARIUS, A.; BRENDEN, M.; SLIJEPCEVIC, M.; BRETZEL, R.G.; FEDERLIN, K. Bovine islets of Langerhans. Potential source of transplantation? **Diabetes**, Alexandria, v. 38, suppl. 1, p. 206-208, 1989.
- JINDAL, R.M.; TAYLOR, R.P.; GRAY, D.W.; ESMERALDO, R.; MORRIS, P.J. A new method for quantification of islets by measurement of zinc content. **Diabetes**, Alexandria, v. 41, n. 9, p. 1056-1062, 1992.
- KAIHOH, T.; MASUDA, T.; SASANO, N.; TAKAHASHI, T. The size and number of Langerhans islets correlated with their endocrine function: a morphometry on immunostained serial sections of adult human pancreases. **Tohoku Journal of Experimental Medicine**, Sendai, v. 149, n.1, p. 1-10, 1986.

- KLENSANG, U.; HAGEMANN, S.; SAEGER, W.; BAJANOWSKY, T.; FREILEDERER, A. Morphology, immunohistochemistry and morphometry of pancreatic islets in cases of sudden infant death syndrome (SIDS). **International Journal of Legal Medicine**, Berlin, v. 110, n. 4, 199-203, 1997.
- PARSONS, J.A.; BARTKE, A.; SORENSON, R.L. Number and size of islets of Langerhans in pregnant, human growth hormone-expressing transgenic, and pituitary dwarf mice: effect of lactogenic hormones. **Endocrinology**, Bethesda, v. 136, n. 5, p. 2013-2021, 1995.
- REAVEN, E. P.; GOLD, G.; WALKER, H.; REAVEN, G. M. Effect of variations in islet size and shape on glucose-stimulated insulin secretion. **Hormone and Research Metabolic**, Stuttgart, v.13, n. 12, p. 673-674, 1981.
- SUDA, K.; MIZUGUCHI, K.; HOCINO, A. Differences of the ventral and dorsal anlagen of pancreas after fusion. **Acta Pathologica Japonica**, Carlton South, v. 31, n. 4, p. 583-589, 1981.
- TAKEI, S.; TERUYA, M.; GRUNEWALD, A.; GARCIA, R.; CHAN, E. K.; CHARLES, M.A. Isolation and of human and pig islets. **Pancreas**, Hagerstown, v. 9, n. 2, p. 150-156, 1994.
- WARNOCK, G.L.; KNETEMAN, N.M.; EVANS, M.G.; RAJOTTE, R. V. Isolation of purified large mammal and human islets of Langerhans. **Hormone and Research Metabolic**, Stuttgart, v. 25, p. 37-44, 1990.
- WHITE, S.A.; HUGES, D.P.; CONTRACTOR, H.H.; LONDON, N. J. A comparison of cross sectional surface area densities between adult and juvenile porcine islets of Langerhans. **Hormone and Research Metabolic**, Stuttgart, v. 31, n. 9, p. 519-524, 1999.

Recebido para publicar: 20/05/2002  
Aprovado: 18/08/2002