

FRECUENCIA Y TAMAÑO DE LOS GRANULOS DE CIMOGENO EN PANCREAS DE RATON ALBINO SUIZO

Leandra Montiel de Pirela*, Enrique Salazar** y Américo Negrette***

* Cátedras de Histología y Embriología** y de Patología. *** Sección de Ultraestructura y Biología Celular. Instituto de Investigaciones Clínicas. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia. Apartado Postal 526. Maracaibo. Venezuela.

RESUMEN

Se estudiaron cinco muestras de páncreas de ratón albino suizo normales, preparadas siguiendo las técnicas clásicas de microscopía electrónica, con el propósito de establecer parámetros para estudios patológicos posteriores.

La frecuencia y el tamaño de los gránulos de cimógeno se determinaron sobre microfotografías electrónicas, y se encontró una frecuencia de un gránulo de cimógeno por cada 2,35 micras cuadradas, con un diámetro promedio de 0,58 micras.

El tamaño encontrado está acorde con los datos aportados por otros autores; pero en cuanto a la frecuencia no conseguimos reportes en la literatura revisada.

INTRODUCCION

El páncreas es una glándula anfícina (endocrina y exocrina); la secreción endocrina es producida por los Islotes de Langerhans que se hallan

distribuidos irregularmente en el órgano y están constituidos por agrupaciones celulares en forma de acúmulos con gran cantidad de capilares sanguíneos y rodeados por una delgada capa de tejido conectivo reticular. La mayor parte de las células del órgano, están agrupadas formando acinos pancreáticos, destinadas a la elaboración de la secreción exocrina, la cual es vertida por un sistema de conductos excretores al duodeno.

En cortes histológicos de páncreas se observan en el centro del acino células pequeñas, con citoplasma poco coloreado que corresponden a las células centroacinosas, las cuales pertenecen al sistema de conductos. La célula acinosa principal componente del tejido pancreático es de forma piramidal truncada, presenta el núcleo redondeado y situado cerca de la base, contiene abundante retículo endoplasmático rugoso alrededor del núcleo, mitocondrias en gran cantidad, aparato de Golgi por encima del núcleo, y numerosas estructuras redondeadas que ocupan la porción apical de la célula, denominadas gránulos de cimógeno, cuyo estudio es el propósito del presente trabajo (4, 5).

Los gránulos de cimógeno son estructuras intracelulares características del tejido pancreático, que contienen enzimas y que han sido estudiados en diferentes animales (rata, ratón, cobayo, conejo) e incluso en el hombre.

De acuerdo a diferentes autores, se originan a partir del retículo endoplasmático rugoso, o del aparato de Golgi (1-3, 5-6, 9-12, 16, 19) y contienen enzimas digestivas del tipo de la amilasa, lipasa y quimiotripsina (16, 17), lo cual ha sido determinado por análisis autoradiográficos y bioquímicos.

Se localizan en la región apical de la célula (1, 5, 15) y eliminan su secreción por fusión de la membrana celular con la membrana del gránulo (7, 8, 11).

Según algunos autores (4, 5, 13-15) la forma del gránulo, generalmente es redondeada y existen pocas diferencias en cuanto al tamaño de los mismos, de célula a célula o de animal a animal.

Debido a que de todas maneras, existen algunas discrepancias en cuanto al tamaño del gránulo de cimógeno, y por no haber encontrado referencias bibliográficas sobre la frecuencia, es nuestro propósito precisar el tamaño y determinar la frecuencia de los gránulos de cimógeno en páncreas de ratón albino suizo.

MATERIAL Y METODOS

Se escogieron al azar en el bioterio, cinco ratones albino suizo normales, alimentados ad libitum con ratarina, sacrificados con vapores de éter

y se obtuvieron muestras de páncreas, de aproximadamente un milímetro de grosor. Se fijaron con glutaraldehído al 3% en buffer fosfato 0.1 M a 4°C pH 7.2. Luego se lavaron con el mismo buffer fosfato, agregándole sucrosa en cantidad suficiente para que su concentración sea 6.161 gr% con respecto al buffer. Se hizo una segunda fijación con tetraóxido de osmio al 1% en buffer fosfato. Se deshidrataron con acetona, a concentraciones crecientes y se realizó la inclusión en araldita, con polimerización en estufa a 60°C, durante 48 horas. Se realizaron cortes gruesos de 1 a 2 μ , que fueron coloreados con azul de toluidina y observados en un fotomicroscopio Carl Zeiss con lente de inmersión, con el propósito de seleccionar la zona más adecuada para realizar los cortes finos. Las secciones ultrafinas, obtenidas con un ultramicrotomo PORTER BLUM M.T. 2B con cuchilla de diamante, fueron coloreadas con acetato de uranilo al 2% y citrato de plomo (18). Finalmente los cortes fueron observados en un microscopio electrónico J.E.M. 100B a 80 K.V. y se obtuvieron 108 microfotografías electrónicas.

Para establecer la frecuencia (F) se midió el área celular total, se contaron los gránulos presentes en dicha área y se determinó su cantidad por micras cuadradas, para lo cual se utilizaron las siguientes fórmulas:

$$1.- r = \frac{P}{2\pi}$$

El perímetro (P) se obtuvo sobre las microfotografías electrónicas utilizando un curvómetro milimetrado.

$$2.- a = r^2 \times \pi$$

El radio (r) se eleva al cuadrado y se obtiene el área (a), expresada en micras cuadradas.

$$3.- F = \frac{a}{n}$$

Donde n es el número de gránulos de cimógeno encontrados en el área celular.

El tamaño de los gránulos se determinó, sobre las microfotografías electrónicas, promediando diámetros mayor y menor. Se midieron los gránulos que presentaban contornos nítidos; obteniéndose además del diámetro promedio, el número de los gránulos medidos y la desviación estándar.

RESULTADOS

Los gránulos de cimógeno son estructuras redondeadas, situadas predominantemente en la región apical de la célula acinosa, presentan contenido homogéneo de alta densidad electrónica y están revestidos por una membrana (Figs. 1 y 2). Al medir los gránulos obtuvimos los siguientes resultados:

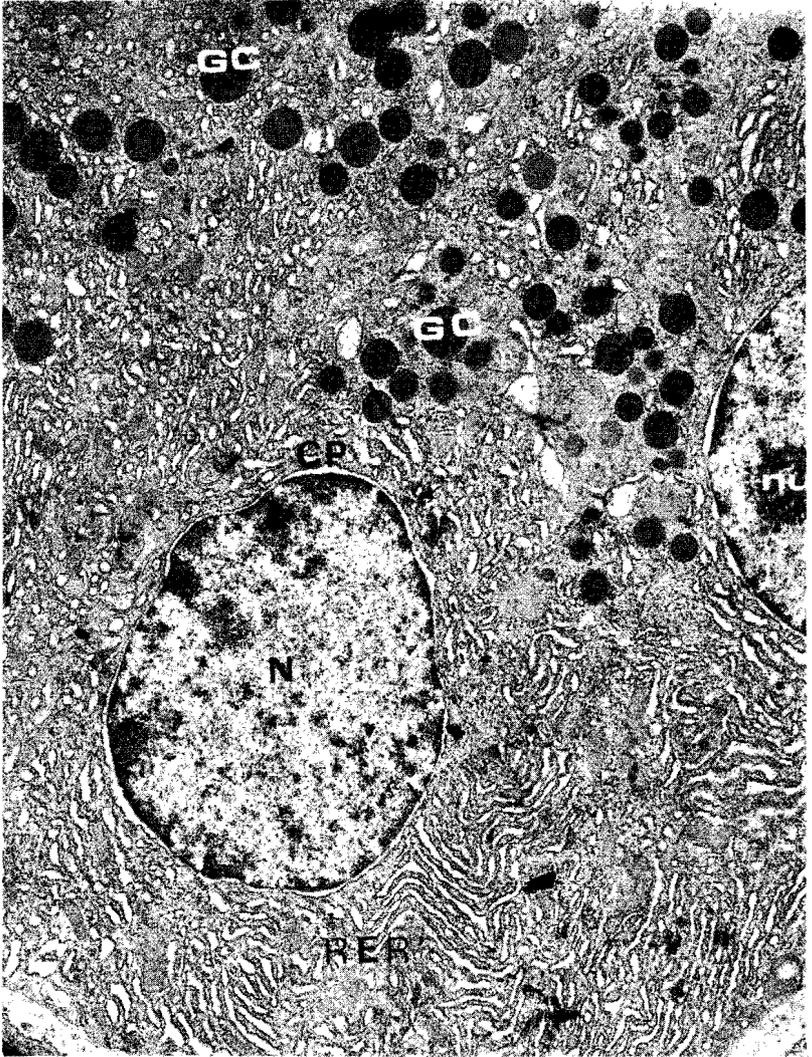


Fig. 1.— Célula pancreática exocrina. N: núcleo; nu: nucleolo; C.P.: cisterna perinuclear; GC: gránulos de cimógeno; R.E.R.: retículo endoplasmático rugoso. X = 9.000.

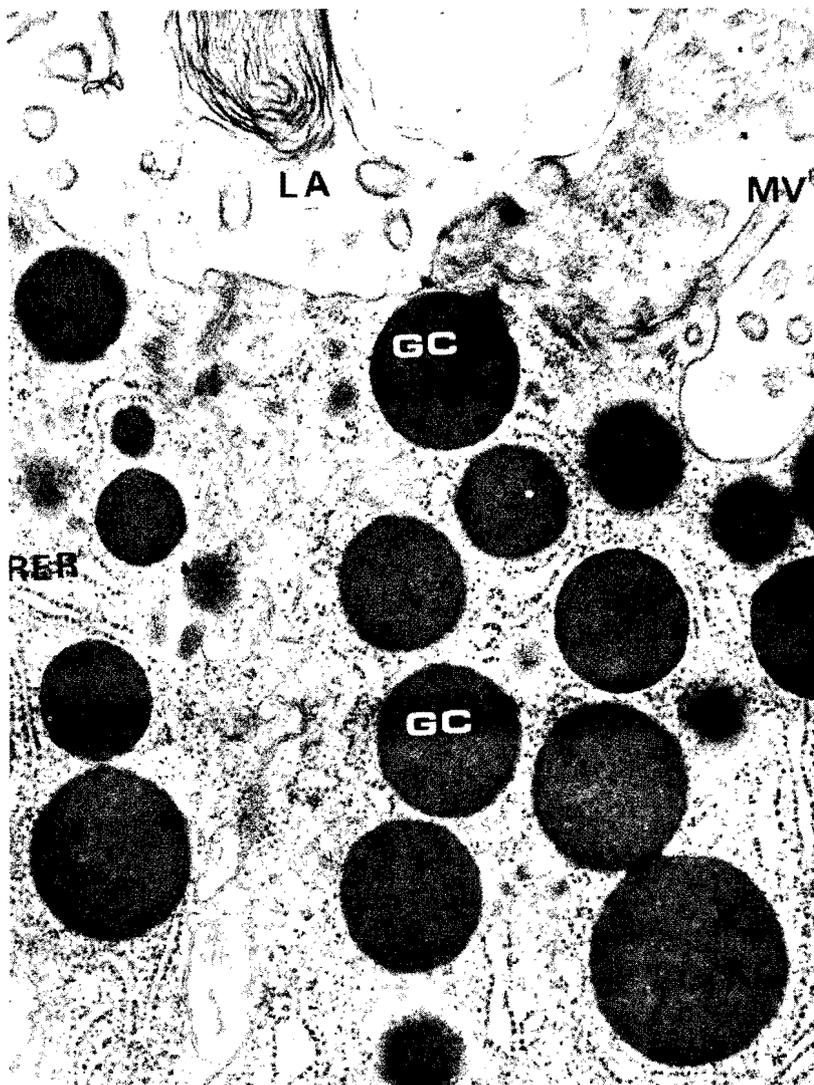


Fig. 2.— Células pancreática exocrina (Región Apical). LA: luz acinar; MV: microvellosidades; GC: gránulos de zimógeno; R.E.R.: retículo endoplasmático rugoso. X = 40.000.

Frecuencia.— Al promediar todos los casos, encontramos 151 células pancreáticas, con un área celular total de $8.540,69 \mu^2$, observándose 3.626 gránulos de zimógeno; lo que representó una frecuencia de un gránulo por cada $2,35 \mu^2$.

Tamaño.— Para determinar el tamaño se sumaron los promedios de los diámetros medidos en cada uno de los casos, realizándose la sumatoria de 1.841 gránulos, obteniéndose un diámetro promedio de $0,58 \mu$, una desviación estándar de $0,14 \mu$, un error estándar de $0,0032 \mu$ y un rango comprendido entre $0,15$ y $1,20 \mu$.

DISCUSION

El tamaño de los gránulos de cimógeno, ha sido determinado por varios autores (1, 4, 5, 14, 15) en diferentes órganos y animales.

Ekholm y Edlund (4), en un trabajo realizado sobre la ultraestructura del páncreas exocrino humano, visualizaron los gránulos de cimógeno como cuerpos esféricos o elipsoidales, de contenido homogéneo y alta densidad, que presentaban un diámetro promedio de $0,6 \mu$ y un rango comprendido entre $0,4$ y $0,8 \mu$. Ellos no refieren el número de gránulos medidos, pero hacen énfasis en que las mediciones fueron realizadas en aquellos gránulos que tenían contornos nítidos.

Estudiando la organización estructural del páncreas exocrino de la rata, Ekholm, Zelander y Edlund (5), dicen que los gránulos de cimógeno son estructuras redondeadas, con contenido homogéneo de alta densidad, rodeados por una membrana distintiva y con un diámetro que fluctúa entre $0,3$ y 1μ , siendo el promedio de $0,6 \mu$.

En ambos casos, el tamaño concuerda con nuestros resultados, habiendo diferencias en cuanto al rango obtenido, por ser el nuestro más amplio en ambos extremos.

En otro estudio realizado en páncreas de rata (14), se midieron 253 gránulos y se encontró un tamaño promedio de $0,98 \mu$, con una desviación estándar de $0,19 \mu$.

Palade (15), haciendo un estudio de los gránulos encontrados dentro del retículo endoplasmático rugoso, en el páncreas exocrino del conejillo de indias, sugiere que estos deben estar directamente involucrados en la formación de gránulos de cimógeno, en los cuales halló un diámetro promedio de $0,6 \mu$.

La mayoría de los autores citados, dan un diámetro promedio de los gránulos de cimógeno, pero no reportan la cantidad de gránulos medidos, ni la desviación estándar, lo que no nos permite hacer una adecuada comparación estadística. Nadelhaft (14), fue el único que aportó estos datos al

hacer un estudio con 253 gránulos, cantidad esta muy inferior a la medida por nosotros (1.841 gránulos). Podemos afirmar con un amplio grado de certeza estadística ($p < 0,000001$) que los gránulos de zimógeno del páncreas de rata ($0,98 \mu$) estudiados por este autor son de mayor tamaño que los del ratón albino suizo normal ($0,58 \mu$) estudiados por nosotros.

El tamaño de los gránulos de zimógeno del páncreas del ratón albino suizo normal, encontrado por nosotros ($0,58 \mu$), es comparable al de los gránulos de zimógeno del páncreas del humano ($0,6 \mu$) y del conejillo de indias ($0,6 \mu$).

En un trabajo (14) se asigna a los mismos gránulos en la rata, un tamaño mucho mayor ($0,98 \mu$); mientras que en otro (5), se le atribuye $0,6 \mu$. En cambio, los gránulos secretorios de la glándula parótida del conejo (1), parecen ser de mayores dimensiones; puesto que su rango varía entre $1,1$ y $1,5 \mu$.

En cuanto a la frecuencia, ninguno de los autores citados en la bibliografía, aporta datos concretos con respecto a este parámetro. Castle y colaboradores (1) dicen que los gránulos secretorios ocupan más de la mitad del volumen celular y Ekholm y Edlund (4), refieren que el número de los gránulos varía considerablemente de célula a célula.

En conclusión, hemos establecido el tamaño de los gránulos de zimógeno del páncreas del ratón albino suizo normal ($0,58 \mu$ de diámetro promedio) y a partir de su número encontrado en el área celular total estudiada, también hemos determinado su frecuencia (un gránulo por cada $2,35 \mu^2$).

ABSTRACT

Size and frequency of the zymogen granules in pancreas from white swiss mice. Montiel de Pirela, L., Salazar E., Negrette, A. (*Cátedras de Histología y Embriología y de Patología. Sección de Ultraestructura y Biología Celular. Instituto de Investigaciones Clínicas. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia. Apartado Postal 526. Maracaibo, Venezuela*). *Invest Clín* 23(1): 13-21, 1982.— Five sections of exocrine pancreas from normal white swiss mice were processed according to the classic technics for electron microscope, with the purpose to establish parameters to make future pathologic studies. The microphotographs were used to determinate the frequency and average diameter of the zymogen granules, and it was stated a frequency of 2,35 square micras with an average diameter of 0,58 micras. This size is according with the datum of other authors, but regard to the frequency we could not get any report in the reviewed bibliography.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- CASTLE JD, JAMIESON JD, PALADE GE: Radioautographic analysis of the secretory process in the parotid acinar cell of the rabbit. *The Journal of Cell Biology* 53: 290-311, 1972.
- 2- CARO LG: Electron microscopic radioautography of thin sections: the golgi zone as site of protein concentration in pancreatic acinar cells. *The Journal of Biophysical and Biochemical Cytology* 10: 37-44, 1961.
- 3- CARO LG, PALADE GE: Protein synthesis, storage and discharge in the pancreatic exocrine cell. *The Journal of Cell Biology* 12: 473-495, 1964.
- 4- EKHOLM R, EDLUND Y: Ultrastructure of the human exocrine pancreas. *J Ultrastructure Research* 2: 453-481, 1959.
- 5- EKHOLM R, ZELANDER T, EDLUND Y: The ultrastructural organization of the rat exocrine pancreas. *J Ultrastructure Research* 7: 61-72, 1962.
- 6- FARQUHAR MG, WELLINGS R: Electrom microscopic evidence suggesting secretory granule formation within the Golgi apparatus. *The Journal of Biophysical and Biochemical Cytology* 3: 319-324, 1959.
- 7- GEUZE JJ, POORT C: Cell membrane resorption in the rat exocrine pancreas cell after in vivo stimulation of the secretion, as studied by in vitro incubation with extracellular space markers *The Journal of Cell Biology* 57: 159-174, 1973.
- 8- HERMAN L, FITZGERALD PJ: Restitution of pancreatic acinar cells following ethionine. *The Journal of Cell Biology* 12: 297-312, 1962.
- 9- JAMIESON JD, PALADE GE: Intracellular transport of secretory proteins in the pancreatic exocrine cell. II. Tranposrt to condensing vacuoles and zymogen granules. *The Journal of Cell Biology* 34: 597-615, 1967.
- 10- JAMIESON JD, PALADE GE: Intracellular transport of secretory proteins in the pancreatic exocrine cell. I. Role of the peripheral elements of the Golgi complex. *The Journal of Cell Biology* 34: 577-596, 1967.

- 11- JAMIESON JD, PALADE GE: Synthesis, intracellular transport, and discharge of secretory proteins in stimulated pancreatic exocrine cells. *The Journal of Cell Biology* 50: 135-158, 1971.
 - 12- KRAMER MF, POORT C: Protein synthesis in the pancreas of the rat after stimulation of secretion. *Zell Forsch Mikrosk Anat.* 86: 475-486, 1968.
 - 13- LIEBOW C, ROTHMAN SS: Distribution of zymogen granule size. *American Journal of Physiology* 225 (1): 258-262, 1973.
 - 14- NADELHAFT I: Measurement of the size distribution of zymogen granules from rat pancreas. *Biophysical Journal.* 13: 1014-1029, 1973.
 - 15- PALADE GE: Intercisternal granules in the exocrine cells of the pancreas. *J Biophysic and Biochem Cytol* 2 (4): 417-421, 1956.
 - 16- PARSA I, MARSH WH, FITZGERALD PJ: Pancreas acinar cell differentiation. *The American Journal of Pathology* 57(3): 457-485, 1969.
 - 17- SCHNEIDER WC, SMITH GH: On the isolation of zymogen granules from rat pancreas by zonal ultracentrifugation and their nucleic acid content. *Analytical Biochemistry* 80: 373-382, 1977.
 - 18- VENABLE JH, COGGESHALL RA: Simplified lead citrate stain for use electron microscopy. *J Cell Biol* 25: 407-408, 1965.
 - 19- ZEIGEL RF, DALTON AJ: Speculations based on the morphology of the Golgi systems in several types of protein secreting cells. *The Journal of Cell Biology* 15: 45-54, 1962.
-