

## Características histológicas del hígado de la llama (*Lama glama*)

### Histological features of the liver of the llama (*Lama glama*)

Alejandra N.C. Castro<sup>1</sup>, Mariano Carrica Illia<sup>1</sup>, Pamela A. Lendez<sup>1</sup>,  
María P. Carrica Illia<sup>1</sup>, Bárbara Zimmermann<sup>1</sup>, Galy J. Mendoza Torres<sup>2</sup>,  
Marcelo D. Ghezzi<sup>1</sup>, Claudio G. Barbeito<sup>3</sup>

#### RESUMEN

El objetivo de este estudio fue analizar las características histológicas del hígado de la llama. Se estudiaron 20 llamas adultas, machos y hembras, con edad promedio de dos años. Las muestras fueron procesadas utilizando las técnicas de tinción con hematoxilina-eosina, tinción tricrómica de Masson, reticulina, orceína, PAS, inmunohistoquímicas y microscopía electrónica de transmisión. Las características del parénquima y del estroma del hígado fueron similares a las encontradas en otros mamíferos. Sin embargo, no se observó tejido conectivo interlobulillar similar al descrito para el género *Camelus*. Las diferencias en el hígado de las especies del género *Camelus* y *Lama* demuestran la necesidad de realizar estudios de los órganos en todas las especies y destaca la importancia de no generalizar a partir de otras especies de la misma familia.

**Palabras clave:** camélidos sudamericanos, órganos abdominales, histología, inmunohistoquímica, microscopía electrónica de transmisión

<sup>1</sup> Laboratorio de Anatomía, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Campus Universitario, Tandil, Provincia de Buenos Aires, Argentina

<sup>2</sup> Laboratorio de Anatomía, Facultad de Veterinaria y Zootecnia, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú

<sup>3</sup> Laboratorio de Histología y Embriología Descriptiva, Experimental y Comparada, Facultad de Ciencias Veterinarias, CONICET, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina

\* E-mail: [alecas@vet.unicen.edu.ar](mailto:alecas@vet.unicen.edu.ar)

Trabajo financiado por la Secretaría de Ciencia, Arte y Tecnología de la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Tandil, Provincia de Buenos Aires, Argentina y por la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina

Recibido: 28 de noviembre de 2022

Aceptado para publicación: 17 de junio de 2023

Publicado: 25 de agosto de 2023

©Los autores. Este artículo es publicado por la Rev Inv Vet Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original

## ABSTRACT

The aim of this study was to analyse the histological characteristics of the liver of the llama. Twenty adult llamas, males and females, with an average age of two years were studied. Samples were processed using the following techniques: haematoxylin-eosin staining, Masson's trichrome stain, reticulin, orcein, PAS, immunohistochemistry, and transmission electron microscopy. The characteristics of the liver parenchyma and stroma were similar to those found in other mammals. However, interlobular connective tissue similar to that described for the genus *Camelus* was not observed. The differences in the liver of the species of the *Camelus* and *Lama* genera showed the need to carry out studies of the organs in all species and highlights the importance of not generalizing from other species of the same family.

**Key words:** South American camelids, abdominal organs, histology, immunohistochemistry, transmission electron microscopy

## INTRODUCCIÓN

La llama (*Lama glama*) (Linnaeus, 1758), especie doméstica dentro de la familia Camelidae está adaptada a las condiciones de altura y tiene la característica de aprovechar alimentos de baja calidad con alta eficiencia (Nuevo Freire, 1994; Lichtenstein *et al.*, 2010). Esta particularidad sustenta la necesidad de ampliar los conocimientos sobre el sistema digestivo de esta especie.

El hígado de los camélidos presenta una conformación macroscópica muy peculiar que ha despertado el interés de los anatomistas (Endo *et al.*, 2000). En la llama se encuentra ubicado en la región abdominal craneal, hipocondrio derecho, con relación a las últimas seis costillas (Castro *et al.*, 2001). Presenta dos superficies (parietal y visceral), tres bordes (craneal, caudal y ventral) y tres ángulos (dorsal, craneal y caudal). El borde ventral presenta profundas incisuras irregulares que le otorgan un aspecto complicado a la superficie del órgano y determinan su lobulación (Castro *et al.*, 2009). Una disposición similar fue reportada para el camello dromedario (*Camelus dromedarius*) (Ouhssine y Zguigal, 1983; Lalla y Drommer,

1997). En el hígado de la llama se observan los lóbulos lateral izquierdo, medial izquierdo, cuadrado, derecho y caudado; este último conformado por los procesos caudado y papilar (Castro *et al.*, 2009). Las vías biliares carecen de vesícula biliar (Vallenas, 1991).

En la familia Camelidae, la estructura microscópica del hígado ha sido descrita en el camello dromedario (Lalla y Drommer, 1997), en el camello bactriano (*Camelus bactrianus*) (Endo *et al.*, 2000) y en la alpaca (*Vicugna pacos*) (Castro *et al.*, 2016), pero no en la llama. El hígado en el camello dromedario (Lalla y Drommer, 1997) y en el camello bactriano (Endo *et al.*, 2000) presenta abundante tejido conectivo interlobulillar que forma gruesos tabiques que delimitan lobulillos poligonales. Esta disposición es similar a lo descrito en la familia Suidae (Steiner y Ratcliffe, 1968), mientras que, en la alpaca, el tejido conectivo es escaso y está limitado exclusivamente a los canales portales (Castro *et al.*, 2016). Asimismo, el endotelio que tapiza los sinusoides hepáticos ha sido descrito en el camello dromedario (Lalla y Drommer, 1997), donde las células endoteliales poseen múltiples fenestraciones y presentan la membrana basal sinusoidal discontinua.

El objetivo de este trabajo fue analizar las características histológicas del parénquima y del estroma hepático en la llama, con el fin de brindar un sustento morfológico para las técnicas de diagnóstico específicas del órgano y para las áreas de aplicación como la fisiología y la clínica en esta especie.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestreo

La población en estudio estuvo constituida por 20 llamas adultas, machos y hembras, de  $99 \pm 14$  kg de peso y una edad promedio de dos años. Las muestras fueron obtenidas de los rebaños experimentales de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Argentina, de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú, y de los camales municipales de Huancavelica y Pilpichaca, ambos ubicados en el departamento de Huancavelica, Perú.

### Técnicas Histológicas

Para la descripción microscópica se tomaron muestras *post mortem* de los lóbulos del hígado. Las muestras se fijaron en formol tamponado (tampón de fosfato al 10%, pH 7.2-7.4) durante 48 h para luego iniciar su procesamiento mediante técnicas histológicas de rutina. Se realizaron cortes de 5  $\mu$ m de espesor. En las láminas se empleó la tinción con hematoxilina-eosina para la observación de la estructura histológica y la tinción tricrómica de Masson para localizar el tejido conectivo, así como impregnación argéntica de Gomori para determinar la presencia de fibras reticulares, orceína para identificar fibras elásticas y ácido peryódico-Schiff (PAS) con y sin digestión con diastasa para localizar glucógeno.

### Técnicas Inmunohistoquímicas

Los cortes, montados en portaobjetos positivados, fueron desparafinados, deshidratados e incubados con  $H_2O_2$  al 3% en metanol durante 30 min a temperatura ambiente y aclarados en solución salina tamporada con fosfato (PBS, pH 7.4). La recuperación antigénica se realizó mediante una irradiación de microondas de 750 W, dos veces durante 5 min, en tampón de citrato (pH 6.0). Los sitios de unión no específicos se bloquearon con albúmina de suero bovino (BSA) al 2% durante 30 min en una cámara húmeda a 4 °C, seguido de la incubación del anticuerpo primario durante 1 h a 37 °C.

Se utilizaron los siguientes anticuerpos monoclonales primarios comerciales: anti-vimentina porcina, clon V9 (prediluido) (Dako®, USA) para la identificación de endotelios y macrófagos y anti-desmina porcina clon DE R 11 (Dako®, USA) (1: 100), para la identificación de tejido muscular. Para la detección de vimentina y desmina se aplicó el método Envision Dako®, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El revelado se efectuó mediante el cromógeno di amino bencidina (DAB Kit Vector DAKO®) y hematoxilina como contraste. Algunas secciones se usaron como control negativo incubadas con albúmina de suero bovino (BSA) al 1%, omitiendo el anticuerpo primario. Se utilizaron como control positivo muestras de otros órganos de llama (intestino, lengua), con reactividad positiva reconocida, para validar la distribución específica de la marcación positiva.

### Microscopía Electrónica de Transmisión

Las muestras destinadas a esta técnica se fijaron por inmersión en glutaraldehído al 4%, posteriormente en tetróxido de osmio al 1% y se embebieron en EPON 812. Los cortes ultrafinos se contrastaron con acetato de uranilo y citrato de plomo para su observación en el microscopio electrónico de trans-

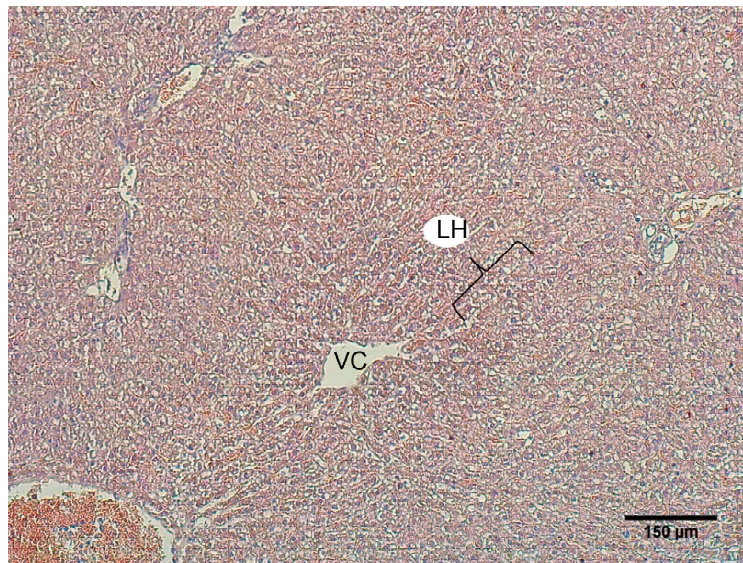


Figura 1. Lobulillo hepático de llama (*Lama glama*). Láminas de hepatocitos (LH), vena central (VC). H/E, x10

misión (JEOL JEM 1200-EXII®) de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina.

### Nomenclatura

Las descripciones se basaron en la nomenclatura propuesta por la Nomenclatura Histológica Veterinaria (NHV) (International Committee on Veterinary Histological Nomenclature, 2017). En el caso específico de aquellas estructuras cuya denominación anterior sea de utilización frecuente, se indicó entre paréntesis, a continuación del término propuesto por la NHV.

### Consideraciones Éticas

Todos los procedimientos para el manejo y el muestreo de los animales se realizaron de acuerdo con la normativa acordada por el Comité de Bienestar Animal de la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (Res. 056/12).

## RESULTADOS

El parénquima hepático estuvo constituido por láminas de hepatocitos dispuestas radialmente a partir de una vena central (Figura 1). Los hepatocitos tenían forma poliédrica, con núcleos esféricos de ubicación central y nucléolos prominentes. En su citoplasma se observaron inclusiones de glucógeno mediante la técnica PAS (Figura 2). Entre las láminas de hepatocitos se ubicaron los capilares sinusoidales. Estos se observaron revestidos por células endoteliales, evidenciadas mediante inmunomarcación con vimentina. Intercalados entre las células endoteliales se identificaron macrófagos residentes (células de Kupffer), mediante inmunomarcación con vimentina (Figura 3).

Las células endoteliales se caracterizaron por poseer los núcleos aplanados. Mediante microscopía electrónica de transmisión se observó que presentaban fenestraciones y la membrana basal discontinua (Figura 4).



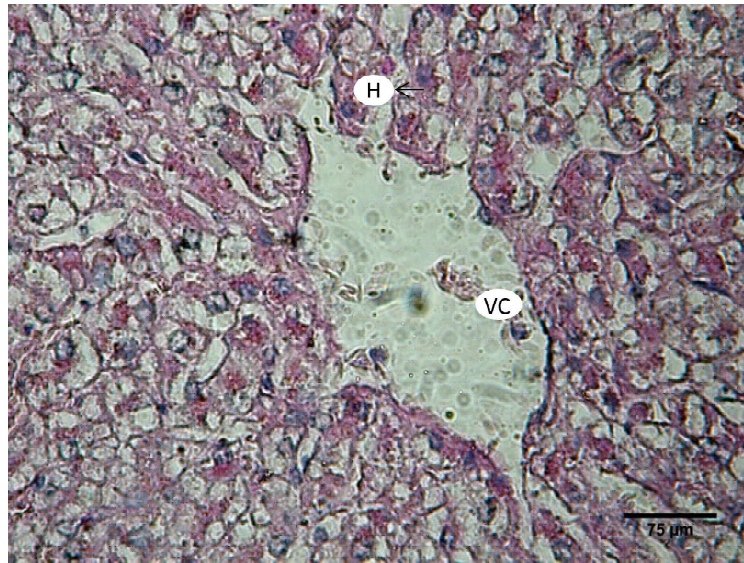


Figura 2. Parénquima hepático de llama (*Lama glama*). Hepatocitos con gránulos de glucógeno (H), vena central (VC). PAS, x40

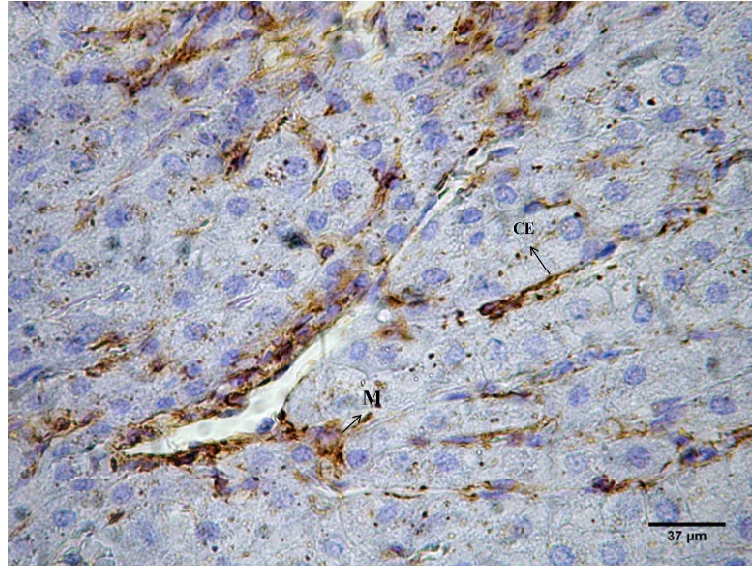


Figura 3. Capilares sinusoidales en el hígado de llama (*Lama glama*). Células endoteliales (CE), macrófagos residentes (M). Vimentina. x40

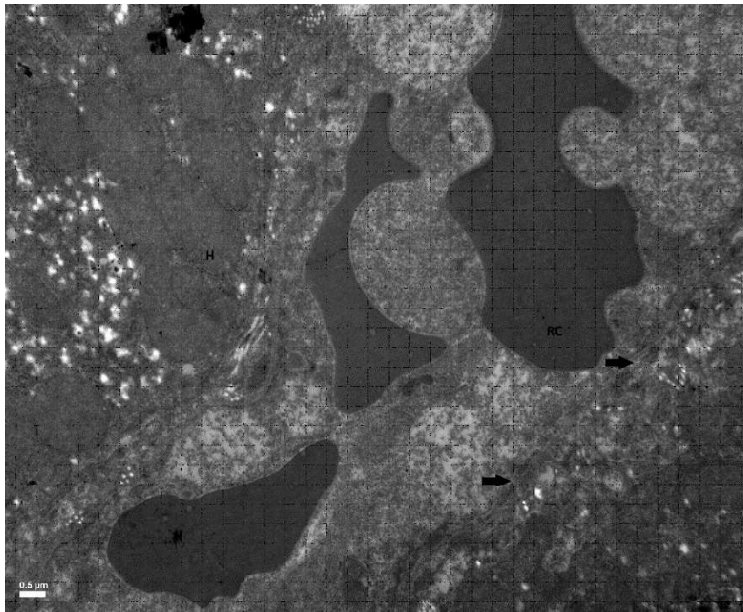


Figura 4. Ultraestructura de los capilares sinusoidales en el hígado de llama (*Lama glama*). Las flechas muestran las fenestraciones endoteliales. Hepatocitos (H), eritrocitos (RC). ME. x50 000

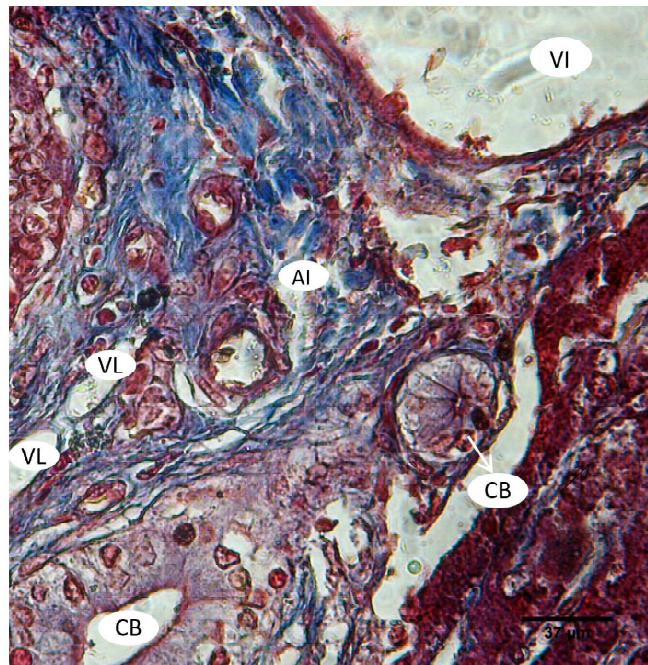


Figura 5. Canal portal en el hígado de llama (*Lama glama*). Conducto biliar interlobulillar (CB), vena interlobulillar (VI), arteriola interlobulillar (AI), vaso linfático periportal (VL). Tinción tricrómica de Masson. x40



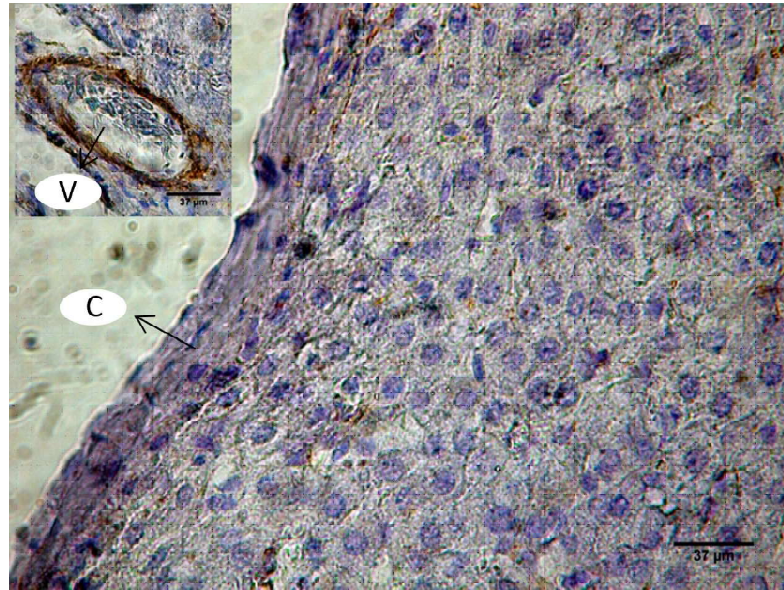


Figura 6. Cápsula fibrosa (C) del hígado de llama (*Lama glama*). Inserto con vaso sanguíneo como control positivo (V). Desmina. x40

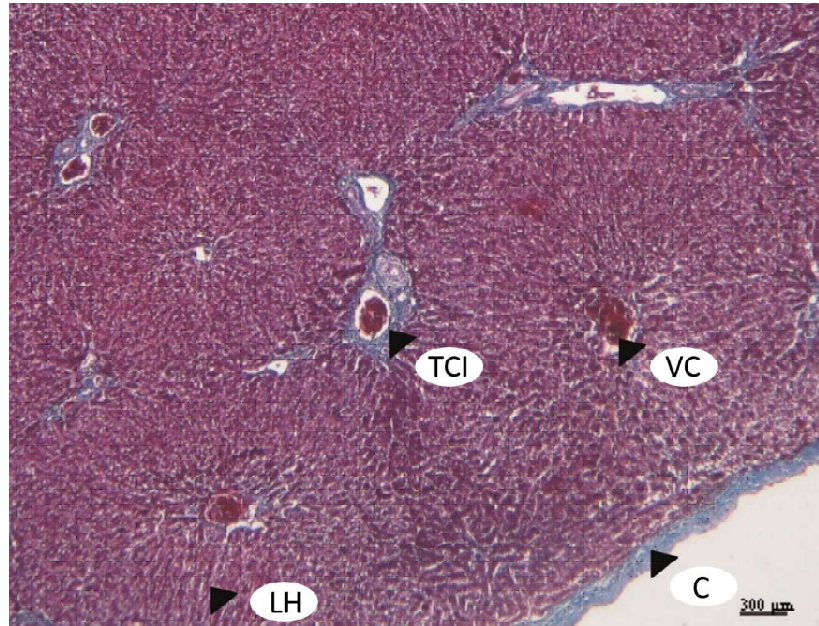


Figura 7. Estroma hepático de llama (*Lama glama*). Cápsula (C), tejido conectivo interlobulillar (TCI), lámina de hepatocitos (LH), vena central (VC). Tinción tricrómica de Masson. x40

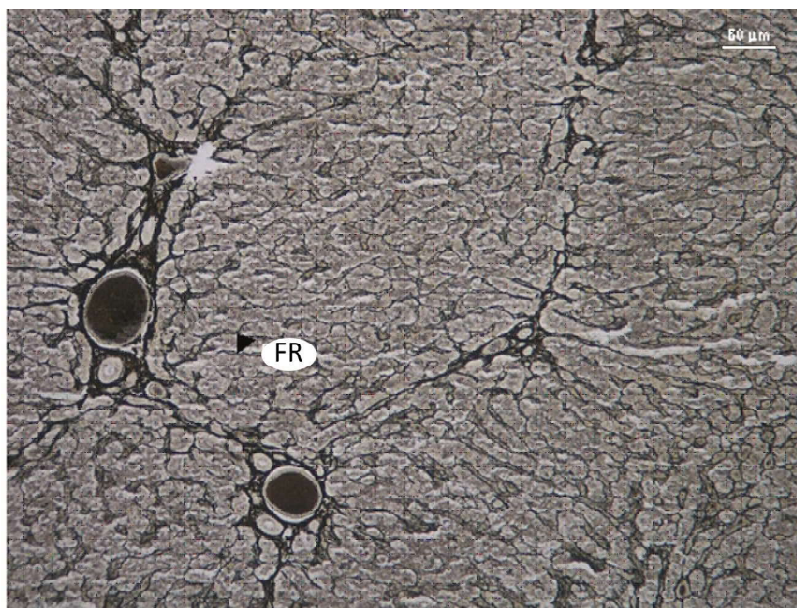


Figura 8. Estroma hepático de llama (*Lama glama*). Fibras reticulares (FR). Impregnación argéntica de Gomori. x20

Los conductos biliares interlobulillares se observaron formados por células cilíndricas, los colangiocitos. Estos se identificaron en el canal portal, espacio de confluencia de los lobulillos, constituyendo las tríadas hepáticas juntamente con las venas interlobulillares, ramas de la vena porta, y las arteriolas interlobulillares, ramas de la arteria hepática. Además, se observaron pequeños vasos linfáticos periportales (Figura 5).

En cuanto al estroma, el hígado se observó cubierto por una cápsula fibrosa de tejido conectivo denso. Esta carecía de fibras elásticas y de músculo liso (Desmina negativo) (Figura 6). No se observaron proyecciones en forma de tabiques dividiendo el parénquima. El tejido conectivo interlobulillar era extremadamente escaso, excepto en la zona del canal portal (Figura 7). El tejido conectivo intralobulillar estaba constituido por una red de fibras reticulares, que se continuaba con el tejido conectivo interlobulillar en el espacio periportal (Figura 8).

No hubo diferencias morfológicas relacionadas con el sexo, la edad, la etapa reproductiva o el lóbulo analizado.

## DISCUSIÓN

Las observaciones del parénquima hepático concuerdan con las descripciones realizadas en otros mamíferos como el ratón (Baratta *et al.*, 2009), cobayo (Rosas *et al.*, 2010), bisonte europeo (*Bison bonasus*) (Prunescu *et al.*, 2002), cerdo y cabra (Nishimura *et al.*, 2009).

Durante mucho tiempo se ha discutido si el revestimiento endotelial de los capilares sinusoidales hepáticos es continuo o tiene soluciones de continuidad. De acuerdo con Wood (1963), existen diferencias significativas entre especies en el grado de discontinuidad endotelial. Se ha consensuado que la pared de los capilares sinusoidales es discon-



tinua en la mayoría de los mamíferos, incluido el hombre (Bloom y Fawcett, 1968). En la llama, las células endoteliales de los capilares sinusoidales mostraron fenestraciones y estaban rodeadas por una membrana basal discontinua. Esta observación es coincidente con lo descrito en el camello dromedario (Lalla y Drommer, 1997) y contrasta con lo informado en terneros (Wood, 1963), donde el revestimiento endotelial se caracteriza por presentar continuidad y poseer una membrana basal prominente. En ovejas adultas los capilares tienen un revestimiento endotelial con numerosos espacios y fenestraciones y están rodeados por una membrana basal completa, en tanto que en corderos recién nacidos tienen un endotelio relativamente grueso con menor cantidad de fenestraciones (Gemmell y Heath, 1971). Estudios realizados en ratas, indican que los capilares sinusoidales hepáticos pueden considerarse fenestrados, pero se diferencian de otras especies por la ausencia de un diafragma en las fenestraciones y por la ausencia de una membrana basal que rodea al capilar (Wisse, 1970).

El estroma hepático en los mamíferos presenta diferentes patrones de distribución. La presencia de tejido conectivo interlobulillar continuo es exclusiva de la familia Suidae (Steiner y Ratcliffe, 1968) y de los camellos del Viejo Mundo (Lalla y Drommer, 1997; Endo *et al.*, 2000). En los mapaches, a pesar de tener abundante tejido conectivo, es discontinuo (Steiner y Ratcliffe, 1968). En la llama, el estroma del tejido conectivo no divide completamente el parénquima en lobulillos como resultado de la ausencia de tabiques de este tejido que se proyecten a partir de la cápsula. Estas observaciones son coincidentes con los resultados obtenidos en el hígado de la alpaca (Castro *et al.*, 2016).

En otras especies, como focas y osos, las descripciones originales que indicaban la existencia de un tejido conectivo interlobulillar bien desarrollado han sido refutadas por otros

estudios (Stewardson *et al.*, 1999; Prunescu *et al.*, 2003). La diferencia encontrada entre especies altamente emparentadas, como los camélidos del Viejo Mundo y los sudamericanos, se opone a las descripciones de la familia Suidae, en la que todos sus miembros tienen tejido conectivo interlobulillar y que está ausente en otras familias relacionadas, como Tayassuidae e Hippopotamidae (Steiner y Ratcliffe, 1968).

Las diferencias en el hígado de especies del género *Camelus* y *Lama* demuestran la necesidad de realizar estudios de órganos normales en todas las especies y destaca la importancia de no generalizar a partir de otras especies de la misma familia. La escasa presencia de tejido conectivo en el hígado de los camélidos sudamericanos puede tener implicancias en la patología hepática. Esto puede estar relacionado, por ejemplo, con la mayor susceptibilidad que presentan a la fasciolosis hepática (Leguía, 1991).

#### LITERATURA CITADA

1. **Baratta JL, Ngo A, López B, Kasabwalla N, Longmuir KJ, Robertson RT. 2009.** Cellular organization of normal mouse liver: a histological, quantitative, immunocytochemical, and fine structural analysis. *Histochem Cell Biol* 131: 713-726. doi: 10.1007/s00418-009-0577-1
2. **Bloom W, Fawcett DW. 1968.** A textbook of histology. 9ª ed. Philadelphia: Saunders. 858 p.
3. **Castro ANC, Ghezzi MD, Alzola RH, Lupidio MC, Rodríguez JA. 2001.** Morfología del hígado de la llama (*Lama glama*). *Rev Chil Anat* 19: 291-296.
4. **Castro ANC, Ghezzi MD, Domínguez MT, Lupidio MC, Gómez SA, Alzola RH. 2009.** Conformation and relations of the liver of llama (*Lama glama*). *Anat Histol Embryol* 38: 108-111. doi: 10.1111/j.1439-0264.2008.00903.x

5. **Castro ANC, Domínguez MT, Gómez SA, Mendoza Torres GJ, Llerena Zavala CA, Ghezzi MD, Barbeito CG. 2016.** Development of the liver in alpaca (*Vicugna pacos*). A microscopic and macroscopic description. *Anat Histol Embryol* 45: 173-83. doi: 10.1111/ahe.12183
6. **Endo H, Gui-Fang C, Dugarsuren B, Erdemtu B, Manglai DD, Hayashi Y. 2000.** On the morphology of the liver in the two-humped camel (*Camelus bactrianus*). *Anat Histol Embryol* 29: 243-246. doi: 10.1046/j.1439-0264.2000.00263.x
7. **Gemmell RT, Heath T. 1971.** Fine structure of sinusoids and portal capillaries in the liver of the adult sheep and the newborn lamb. *Anat Rec* 172: 57-70. doi: 10.1002/ar.1091720106
8. **International Committee on Veterinary Histological Nomenclature. 2017.** *Nomina Histologica Veterinaria*. World Association of Veterinary Anatomists. [Internet]. Disponible en: [http://www.wava-amav.org/downloads/NHV\\_2017.pdf](http://www.wava-amav.org/downloads/NHV_2017.pdf)
9. **Lalla S, Drommer W. 1997.** Observations on the fine structure of the liver in the camel (*Camelus dromedarius*). *Anat Histol Embryol* 26: 271-275. doi: 10.1111/j.1439-0264.1997.tb00135.x
10. **Leguía G. 1991.** The epidemiology and economic impact of llama parasites. *Parasitol Today* 7: 54-56. doi: 10.1016/0169-4758(91)90190-y
11. **Lichtenstein G, Vilá GB, Funes M. 2010.** Centro de estudio y promoción del desarrollo en Camélidos Sudamericanos (DESCO sur). En: III Simposium Internacional de Investigaciones sobre Camélidos Sudamericanos. Arequipa. Perú.
12. **Nishimura S, Sagara A, Oshima I, Iwamoto H, Okano K, Miyachi H, Tabata S. 2009.** Immunohistochemical and scanning electron microscopic comparison of the collagen network constructions between pig, goat and chicken livers. *Anim Sci J* 80: 451-459. doi: 10.1111/j.1740-0929.2009.00660.x
13. **Nuevo Freire CM. 1994.** Sinopsis de historia natural de los camélidos sudamericanos. En: Galotta JM, Márquez SG (eds). *Excerta Anatomica Camelidae*. Buenos Aires, Argentina. p 3-9.
14. **Ouhsine A, Zguigal H. 1983.** La conformation extérieure et la lobation du foie du dromedaire (*Camelus dromedarius*). *Zbl Veterinarmedizin* 12: 25-32.
15. **Prunescu CC, Prunescu P, Krasnińska M, Krasniński A. 2002.** Liver histological structure in adult european bison. *Bison bonasus* (Linnaeus, 1758). *Folia Morphol* 61: 137-142.
16. **Prunescu CC, Serban-Paraua N, Brockb J, Vaughanb D, Prunescu P. 2003.** Liver and kidney structure and iron content in Romanian brown bears (*Ursus arctos*) before and after hibernation. *Comp Biochem Phys A* 134: 21-26. doi: 10.1016/s1095-6433(02)-00146-0
17. **Rosas C, Vásquez B, del Sol M. 2010.** Histological and histochemical description of the liver of the guinea pig (*Cavia porcellus*). *Int J Morphol* 28: 151-156.
18. **Steiner P, Ratcliffe H. 1968.** The hepatic lobules of *Suidae*, *Tayassuidae*, and *Hippopotamidae*. *Anat Rec* 160: 531-537.
19. **Stewardson CL, Hemsley S, Meyer MA, Canfield PJ, Maindonald JH. 1999.** Gross and microscopic visceral anatomy of the male cape fur seal, *Arctocephalus pusillus pusillus* (*Pinnipedia: Otariidae*), with reference to organ size and growth. *J Anat* 195: 235-255. doi: 10.1046/j.1469-7580.1999.19520235.x.
20. **Vallenas A. 1991.** Características anatomofisiológicas. En: Fernández Baca S (ed). *Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos*. Santiago, Chile. Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. p 49-89.

21. **Wisse E. 1970.** An electron microscopic study of the fenestrated endothelial lining of rat liver sinusoids. *J Ultra Mol Struct R* 31: 125-150. doi: 10.1016/s0022-5320(70)90150-4
22. **Wood RL. 1963.** Evidence of species differences in the ultrastructure of the hepatic sinusoid. *Z Zellforsch Mik Ana* 58: 679-692. doi: 10.1007/BF00410656.