



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina Veterinaria

Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

**Identificación inmunohistoquímica de las células
productoras de somatostatina y polipéptido
pancreático en páncreas de alpacas (*Vicugna pacos*)**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Nicanor Sergio SUNI PAIRA

ASESOR

Miluska Beatriz NAVARRETE ZAMORA

Lima, Perú

2016



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Suni N. Identificación inmunohistoquímica de las células productoras de somatostatina y polipéptido pancreático en páncreas de alpacas (*Vicugna pacos*) [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2016.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Nicanor Sergio Suni Paira
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	10705789
URL de ORCID	No aplica.
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Miluska Beatriz Navarrete Zamora
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	25782690
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-8919-1688
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Fidel Francisco Suárez Aranda
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10833645
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	María Elith Vásquez Cachay
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09945245
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Mercy Gisela Ramírez Velásquez
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10713781
Datos de investigación	
Línea de investigación	Anatomía animal y fauna silvestre

Grupo de investigación	Anatomía Veterinaria
Agencia de financiamiento	Perú. Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación Tecnológica, una iniciativa del Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (FONDECYT CONCYTEC). Proyecto de Investigación Básica. Convenio N° 097-2014-FONDECYT-DE.
Ubicación geográfica de la investigación	<p>Estación Experimental IVITA Marangani, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos País: Perú. Departamento: Cusco Provincia: Canchis Distrito: Marangani Calle Lima N° 106 Latitud: -14.3567879 Longitud: -71.1678538</p> <p>Laboratorio de Anatomía Animal y Fauna silvestre, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos País: Perú. Departamento: Lima Provincia: Lima Metropolitana Distrito: San Borja Av. Circunvalación 2800, San Borja, Lima, Perú Latitud: -12.080729 Longitud: -76.987032</p>
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2015-2016
URL de disciplinas OCDE	<p>Ciencia veterinaria https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.01 Anatomía, Morfología https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.01</p>



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO

En el Auditorio Principal de la Facultad de Medicina Veterinaria, el día martes **27 de diciembre de 2016**, a las **10:00** horas, se constituyó el Jurado Examinador designado mediante Resolución Directoral N° 127-EAPMV/FMV-2016, integrado por los siguientes profesores:

FRANCISCO SUÁREZ ARANDA	Presidente del Jurado
MILUSKA NAVARRETE ZAMORA	Asesora de la Tesis
MARÍA VÁSQUEZ CACHAY	Miembro del Jurado
MERCY RAMÍREZ VELÁSQUEZ	Miembro del Jurado

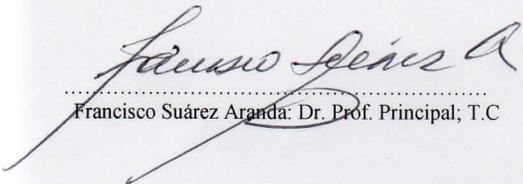
Luego de la instalación del Jurado, a cargo del Presidente del Jurado y bajo la dirección del mismo, el Bachiller Don: **SUNI PAIRA, NICANOR SERGIO**, para optar el Título Profesional de Médico Veterinario, procedió a sustentar públicamente la Tesis:

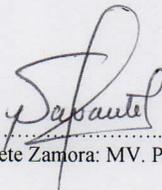
“IDENTIFICACIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE LA CÉLULAS PRODUCTORAS DE SOMATOSTATINA Y POLIPÉPTIDO PANCREÁTICO EN PÁNCREAS DE ALPACAS (Vicugna pacos)”

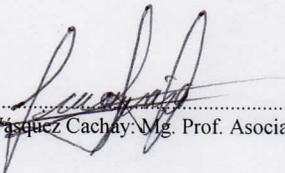
Luego de absolver las preguntas del Jurado y del público asistente, el Jurado deliberó con la abstención reglamentaria del Asesor de la Tesis y acordó su **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD**, otorgándole la nota de **DIECISÉIS (16)**.

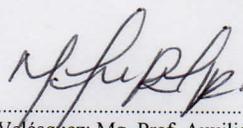
Habiéndose aprobado la sustentación pública de la Tesis, el Presidente en representación del Jurado recomienda que la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria proponga la aprobación del **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO** a la Facultad de Medicina Veterinaria y que ésta proponga al Rectorado el otorgamiento respectivo.

Siendo las **11:25 horas**, concluyó el acto académico de sustentación pública de Tesis en fe de lo cual suscriben la presente acta por cuadruplicado los integrantes del Jurado:


Francisco Suárez Aranda: Dr. Prof. Principal; T.C


Miluska Navarrete Zamora: MV. Prof. Asociado, T.C


María Vásquez Cachay: Mg. Prof. Asociado, D.E.


Mercy Ramírez Velásquez: Mg. Prof. Auxiliar, D.E





UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

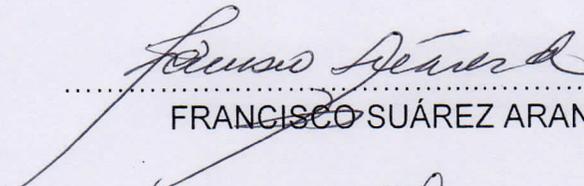
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA

Facultad de Medicina Veterinaria

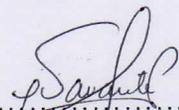
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA

Trabajo sustentado y aprobado ante el Jurado designado por la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria mediante Resolución Directoral N° 127-EPMV/FMV-2016

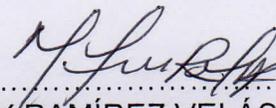
PRESIDENTE :


.....
FRANCISCO SUÁREZ ARANDA

MIEMBROS :


.....
MILUSKA NAVARRETE ZAMORA
Asesora de la Tesis


.....
MARÍA VÁSQUEZ CACHAY


.....
MERCY RAMÍREZ VELÁSQUEZ

San Borja, 27 de diciembre de 2016

V° B°


.....
Dra. DAPHNE RAMOS DELGADO
Directora de la Escuela Profesional de
Medicina Veterinaria





INFORME DE EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD

Tesis para optar el título profesional de Médico Veterinario

1. Facultad: Medicina Veterinaria
 2. Escuela: Medicina Veterinaria
 3. Autoridad académica que emite el informe de originalidad: Escuela Profesional de Medicina Veterinaria.
 4. Apellidos y Nombres de la Autoridad Académica: Santiani Acosta, Alexei Vicent
 5. Operador del Programa Informático de similitudes: Sandoval Monzón Rocío Silvia.
 6. Documento evaluado: "Identificación inmunohistoquímica de las células productoras de somatostatina y polipéptido pancreático en páncreas de alpacas (*Vicugna pacos*)."
 7. Autor del documento: Nicanor Sergio Suni Paira
 8. Fecha de recepción del documento: 17 de junio del 2023
 9. Fecha de aplicación del programa informático: 19 de junio del 2023
 10. Software utilizado
 - Turnitin
 11. Configuración del programa detector de similitudes:
 - Excluye textos entrecomillados
 - Excluye bibliografía
 - Excluye cadenas menores de 40 palabras
 - Exclusión de fuentes para buscar similitud
 12. Porcentaje de similitudes según programa detector de similitudes: 5%
 13. Fuentes originales de similitudes encontradas:
 - Hdl.handle.net 3%
 - www.scielo.org.pe 1%
 - revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe 1%
 - Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 2018 <1%
 14. Observaciones: el mayor porcentaje de las similitudes halladas en la tesis evaluada se encuentra en la sección revisión bibliográfica.
 15. Calificación de originalidad:
DOCUMENTO CUMPLE CRITERIOS DE ORIGINALIDAD, SIN OBSERVACIONES.
- Fecha del informe: 21 de agosto del 2023



Firmado digitalmente por SANTIANI
ACOSTA Alexei Vicent FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 22.08.2023 10:19:11 -05:00

Dr. MV. Santiani Acosta, Alexei Vicent
Director EPMV

Dedicado a:

A Beatriz y Nico, mis padres, gracias a su amor, cariño y apoyo brindado a lo largo de mi carrera y mi vida.

A Lucia: mi mejor amiga, mi amor y mi compañera para toda la vida.

A mis hijas Isabella y Rafaella, por ser mi fuente de inspiración. Por impulsarme y ayudarme a lograr mis metas. Las amo.

A mis hermanos: Maritza, Mizael, Alex, Arturo, Soledad y Pedro.

Agradezco a:

A la Doctora Miluska Navarrete por su amistad, guía, apoyo y consejos.

A los Doctores: Francisco Suarez, María Vásquez y Mercy Ramírez, mis asesores de tesis. Gracias por su paciencia, consejos y todo el apoyo que me brindaron durante el desarrollo del estudio.

A todos los miembros del Proyecto FONDECYT: Dra. Olga Li, Dra. Nieves Sandoval, Dr. Alberto Sato, Dr. Alexander Chávez, Yesenia Giraldo, Luz Lujan, Pacho Santos, Frank Casanova, Gianmarco Panessi. Muchas gracias por todo.

A los Doctores: Amanda Chávez, Eva Casas, Edgardo Figueroa, José Bustamante, por sus enseñanzas y amistad. Y a todos los doctores que contribuyeron con mi formación y desarrollo profesional en la facultad.

A mis amigos y compañeros de la facultad: Juanca, Edwin, Truco, Marquito, Carlitos, Dani, Ronald, Abel, Freddy, Martín, Rocío, Milagros, Juancito R., y a todos aquellos que no son mencionados, pero que los tengo presente. Gracias por estar siempre a mi lado.

A mis amigos: Rolando S., Víctor A., Jesús H., Oscar H., Rafael A., Alfredo H., Nancy L., Vicky R., Miguel R., por estar siempre dispuestos a colaborar conmigo.

El agradecimiento al convenio 097-2014-FONDECYT-DE por el financiamiento para el desarrollo de la tesis.

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS	v
LISTA DE FIGURAS	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	
1. Generalidades	2
2. Morfología del páncreas	2
2.1 Características morfológicas generales	2
2.2 Sistema de conductos; irrigación e inervación	3
3. Histología del páncreas	3
3.1 Área exocrina	3
3.2 Área endocrina	4
4. Fisiología del páncreas	5
4.1 Funcionamiento exocrino	5
4.2 Funcionamiento endocrino	6
4.2.1 Somatostatina	6
4.2.2 Polipéptido pancreático	7
5. Inmunohistoquímica	8
III. MATERIALES Y MÉTODOS	
1. Material de estudio	10
2. Metodología	12
2.1 Colección de muestras	11
2.2 Anticuerpos y reactivos	11
2.3 Inmunohistoquímica	12
2.4 Lectura de láminas	13
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
V. CONCLUSIONES	25
VI. LITERATURA CITADA	26
ANEXOS	34

LISTA DE CUADROS

- Cuadro 1.-** Inmunohistoquímica del páncreas endócrino de alpacas: anticuerpos usados y dilución empleada. 12
- Cuadro 2.-** Reactivos empleados para la inmunohistoquímica en páncreas endócrino de alpacas 12
- Cuadro 3.-** Porcentaje de marcación positiva en islotes del páncreas para células PP. 17
- Cuadro 4.-** Porcentaje de marcación positiva en islotes del páncreas para células delta. 20

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.- Islote pancreático de alpaca -coloración hematoxilina 40x	14
Figura 2.- Marcación positiva, principalmente en grado 2 hasta 3, a polipéptido pancreático en islotes endocrinos en páncreas de alpaca.	14
Figura 3.- Control positivo de polipéptido pancreático (PP) en páncreas de ratas.	16
Figura 4.- Control positivo de somatostatina (delta) en páncreas de ratas.	16
Figura 5.- Inmunomarcación positiva de células PP presentes en páncreas izquierdo (A), páncreas derecho (B) y cuerpo pancreático (C) en alpacas recién nacidas (Grupo 1).	17
Figura 6.- Inmunomarcación positiva de células PP presentes en páncreas izquierdo (A), páncreas derecho (B) y cuerpo pancreático (C) en alpacas crías entre 1 y 2 semanas de edad (Grupo 2).	18
Figura 7.- Inmunomarcación positiva de células PP presentes en páncreas izquierdo (A), páncreas derecho (B) y cuerpo pancreático (C) en alpacas crías de 1 mes de vida (Grupo 3).	18
Figura 8.- Inmunomarcación positiva de células PP presentes en páncreas izquierdo (A), páncreas derecho (B) y cuerpo pancreático (C) en alpaca de 4 meses de vida (Grupo 4).	19
Figura 9.- Inmunomarcación positiva de células PP presentes en páncreas izquierdo (A), páncreas derecho (B) y cuerpo pancreático (C) en alpaca joven, entre 1 y 2 años de edad (Grupo 5).	19
Figura 10.- Inmunomarcación positiva de células PP presentes en páncreas izquierdo (A), páncreas derecho (B) y cuerpo pancreático (C) en alpaca adulta, mayor a 2 años de edad (Grupo 6).	20
Figura 11.- Inmunomarcación positiva de células δ (delta) presentes en páncreas izquierdo en alpacas recién nacidas (Grupo 1).	21
Figura 12.- Inmunomarcación positiva de células δ (delta) presentes en páncreas izquierdo (A), páncreas derecho (B) y cuerpo pancreático (C) en alpacas crías entre 1 y 2 semanas de edad (Grupo 2).	21
Figura 13.- Inmunomarcación positiva de células δ (delta) presentes en páncreas izquierdo (A), páncreas derecho (B) y cuerpo pancreático (C) en alpacas de 1 mes de vida (Grupo 3).	22
Figura 14.- Inmunomarcación positiva de células δ (delta) presentes en páncreas izquierdo (A) y páncreas derecho (B) en alpacas de 4 meses de vida (Grupo 4).	22

RESUMEN

El páncreas es un importante órgano glandular con función reguladora de procesos digestivos y productora de hormonas reguladoras del metabolismo. El objetivo de la tesis fue identificar y evaluar mediante el uso de inmunohistoquímica (IHQ), la existencia de células δ (delta) que producen somatostatina y de células PP que producen polipéptido pancreático en el páncreas de alpacas de diferentes etapas de vida. Las muestras fueron colectadas en la estación IVITA Maranganí ubicada en el departamento de Cusco, provincia de Canchis a 4300 msnm, Perú. Se procesó las muestras en el Laboratorio de Anatomía Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria UNMSM. Se utilizaron 30 alpacas entre crías, jóvenes y adultas, con defectos congénitos o de madres beneficiadas en camal, recibiendo eutanasia según los parámetros de bienestar animal. El páncreas fue reducido y se tomaron tres cortes por lóbulo y dos cortes por cuerpo, para preparar bloques de parafina y láminas de 5 μm de espesor. Se empleó un kit de IHQ (Vector Laboratories, Inc.) y se usaron dos anticuerpos de tipo policlonal: anti-PP y anti-SSTR3 (USBiological Labs) y así identificar las células PP y delta, según protocolo estandarizado de inmunohistoquímica ABC. Para la lectura se utilizó un microscopio trinocular con cámara incorporada (AmScope-USA). La inmunomarcación con DAB se clasificó de forma cualitativa: 0= no hubo marcación; 1= leve; 2= moderada y 3= fuerte. Se utilizó páncreas de rata como controles positivos. En la alpaca las células PP se encontraron en el páncreas derecho y el cuerpo pancreático durante cada etapa estudiada, principalmente en la periferie y porción media del islote pancreático según la inmunomarcación entre leve o moderada. Las células delta productoras de somatostatina fueron identificadas en el páncreas derecho e izquierdo hasta la edad de cuatro meses, para después ser observadas en la periferia de estos islotes con inmunomarcación leve en animales jóvenes y adultos.

Palabras claves: células PP, células delta, camélidos.

ABSTRACT

The pancreas is an important glandular organ with a regulatory function of digestive processes and a producer of metabolism-regulating hormones. The objective of the thesis was to identify and evaluate, through the use of immunohistochemistry (IHC), the existence of δ (delta) cells that produce somatostatin and PP cells that produce pancreatic polypeptide in the pancreas of alpacas of different life stages. The samples were collected at the IVITA Maranganí station located in the department of Cusco, province of Canchis at 4300 masl, Peru. The samples were processed in the Animal Anatomy Laboratory of the Faculty of Veterinary Medicine UNMSM. Thirty alpacas were used, between pups, young and adults, with congenital defects or from mothers benefited from slaughterhouses, receiving euthanasia according to animal welfare parameters. The pancreas was reduced and three sections per lobe and two sections per body were taken to prepare paraffin blocks and 5 μ m-thick sheets. An IHC kit (Vector Laboratories, Inc.) and two polyclonal antibodies were used: anti-PP and anti-SSTR3 (USBiological Labs) to identify PP and delta cells, according to the standardized ABC immunohistochemistry protocol. A trinocular microscope with a built-in camera (AmScope-USA) was used for reading. Immunostaining with DAB was classified qualitatively: 0= no staining; 1= mild; 2= moderate and 3= strong. Rat pancreases were used as positive controls. In the alpaca, PP cells were found in the right pancreas and the pancreatic body during each stage studied, mainly in the periphery and middle portion of the pancreatic islet according to mild or moderate immunolabeling. Somatostatin-producing delta cells were identified in the right and left pancreas up to the age of four months, later to be observed in the periphery of these islets with mild immunolabeling in young and adult animals.

Keywords: PP cells, delta cells, camelids.

I. INTRODUCCIÓN

Vicugna pacos es el nombre científico de la alpaca, camélido sudamericano cuya mayor población se encuentra en Perú, de la cual existen pocos estudios morfológicos detallados y actualizados del páncreas, por lo cual este trabajo busca contribuir a un mejor entendimiento de la anatomía y fisiología en esta especie.

Los camélidos sudamericanos domésticos, como la alpaca, radican en zonas de altura donde desarrollar la agricultura se vuelve complicado, al igual que la crianza de otros animales, estas se caracterizan por poseer extensas áreas de pasto natural, los cuales son aprovechados eficientemente y son convertidos en carne y fibra de alta calidad. Aun cuando esta especie es clasificada como rumiante, el sistema digestivo presenta características estructurales diferentes en los órganos y las glándulas anexas con respecto a otros animales, como en el caso de los bovinos. Se han registrado pocas investigaciones que describan las características histológicas del páncreas de las alpacas, siendo una peculiaridad de ellos presentar niveles de glucosa altos en comparación con los vacunos, ovinos, caprinos, y así mismo, mostrar resistencia a la insulina sin que se desarrollen cuadros clínicos de diabetes.

Con la finalidad de evaluar la regulación de los islotes pancreáticos, es determinante conocer la a nivel microscópico la anatomía de los islotes de Langerhans. La somatostatina tiene un gran espectro de acciones inhibitoras en el metabolismo y se encuentra ampliamente distribuida en los tejidos, incluido el hipotálamo, otras áreas del sistema nervioso central, el páncreas y el aparato digestivo. El polipéptido pancreático regula la función gastrointestinal, influyendo sobre la secreción pancreática exocrina.

El objetivo general del presente estudio fue determinar la localización y presencia de las células delta y el polipéptido pancreático que sirvan a futuros estudios que evalúen la fisiología a nivel endocrino del páncreas en alpacas.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. Generalidades

Los camélidos sudamericanos (CSA), como la alpaca, residen en las zonas altoandinas, sobre los 3000 msnm, del Perú. En este ambiente, la tasa de heladas es alta y la disponibilidad de agua es escasa. Aquí es donde radica su mayor ventaja, porque a pesar de lo rústico de su crianza pueden transformar eficientemente los pastos naturales de este ecosistema en productos como la carne y sobretodo la fibra de calidad incomparable (Iñiguez y Alem, 1996). Actualmente, son el principal sustento económico de productores de camélidos que poseen pocos recursos económicos en ciertos países de América del Sur, incluidos Perú, Bolivia, Chile, Argentina y Ecuador (Quispe *et al.*, 2009).

Según Navarrete y Sato (2010), anatómicamente el páncreas de un camélido está formado por lóbulos izquierdo y derecho, la parte izquierda está conectada a la primera sección del estómago y la parte derecha está relacionada con el duodeno. En esta especie se logra identificar que el lóbulo izquierdo es de mayor tamaño que el derecho y la ausencia del conducto pancreático accesorio.

2. Morfología del páncreas

2.1 Características morfológicas generales

Panesi (2016) describe al páncreas de camélido por tener una coloración rosa pálida, con irregularidad en los bordes y forma lobulada, con una consistencia suave. Se encuentra en la región epigástrica dorsal, rodeado y unido a los órganos circundantes mediante peritoneo conectivo como son el omento mayor, el mesoduodeno, y el ligamento gastroesplénico.

Chávez *et al.*, 2015 menciona que en el caso de la alpaca, el páncreas tiene forma semejante a una “Y” al revés, que se divide en un cuerpo pancreático y dos lóbulos (páncreas derecho y páncreas izquierdo). El páncreas derecho es menos desarrollado que del lado izquierdo y se encuentra unido al duodeno y lóbulo derecho del hígado por el mesoduodeno, en donde se

forman pequeños lobulillos color ámbar. Mientras que el páncreas izquierdo está estrechamente relacionado con el compartimento craneal del estómago, con el bazo, el colon descendente y el riñón izquierdo en su polo craneal. Así mismo, conectado a la primera parte del estómago se encuentra el cuerpo del páncreas, rodeando la vena porta.

2.2 Sistema de conductos, irrigación e inervación

El inicio del conducto hepato-pancreático es variante, porque puede producirse al ingresar al conducto hepático en el páncreas derecho y emerger como conducto hepato-pancreático. También puede originarse cerca “al vértice del páncreas derecho” y desembocar en la ampolla del duodeno (Panési, 2016). En el caso de llamas y camellos, el “conducto pancreático” está fusionado con el “conducto hepático” y forma un solo conducto llamado el conducto hepato-pancreático. Ghezzi *et al.* (2000) menciona que esta asociación ocurre en la llama después que el conducto abandone el lóbulo derecho; sin embargo en los camellos sucede cuando el conducto pancreático emerge del cuerpo pancreático (Ali y Masaad, 2007).

La arteria pancreática duodenal suministra sangre al páncreas derecho y cuerpo pancreático mediante la “arteria pancreática duodenal craneal”, mientras que la “arteria pancreática duodenal caudal” va irrigar el páncreas izquierdo mediante algunas ramificaciones de la “arteria esplénica”. El páncreas se encuentra inervado por fibras autónomas del plexo iliaco (Panési, 2016).

3. Histología del páncreas

En la alpaca, el páncreas se caracteriza por estar rodeado de un tejido conectivo que al invaginarse da origen a lóbulos y pseudolóbulos, distinguibles con tinción H-E a 40x, en el parénquima pancreático (Panési, 2016). Stinson y Calhoun, (1981); Ali y Masaad, (2007) mencionan que la irrigación y la nutrición del órgano se da por los tabiques del tejido conectivo que lo atraviesan, al igual que de pequeños canales pertenecientes a la parte exocrina del páncreas que permiten su excreción.

El páncreas es considerado como órgano de función mixta por que realiza funciones tanto exocrinas como endocrinas. La parte exocrina contiene acinos séricos que forman el jugo pancreático, mientras que la parte endocrina está representado por los “islotos de Langerhans”, que se encargan de sintetizar glucagón, insulina, polipéptido pancreático y somatostatina (Lis *et al.*, 2003).

3.1 Área exocrina

Las células del páncreas que producen catalizadores digestivos se agrupan en acinos

glandulares. Las células del acino glandular tienen forma triangular, cuando se tiñe con la coloración H-E se puede distinguir un núcleo central redondo de color azul (basófilo) y un citoplasma coloreado de rosado (acidófilo); mientras que las células que se encuentran en la sección superior muestran partículas teñidas de color intenso (Panesi, 2016).

Las células centroacinares ubicadas en la luz de los acinos glandulares conforman un sistema de conductos, que continúa con el conducto intralobular, el cual desemboca en el conducto pancreático y se forma de células con forma cúbica y columnar. El conducto pancreático está compuesto por tejido de tipo cúbico (Ali y Massad, 2007 y Longnecker, 2014). Ghezzi *et al.* (2000) menciona que en el caso de la llama, el conducto hepato-pancreático está revestido con epitelio simple de tipo cilíndrico, desprovisto de “células caliciformes”. Este epitelio es más alto y ácido, y se invagina para formar glándulas con tejido conectivo. Estas glándulas tienen la característica de ser tubulares y constituidas de células acidófilas y basófilas, con alta presencia de mucopolisacáridos. En el pliegue duodenal hay un mayor crecimiento glandular, lo que aumenta su grosor

3.2 Área endocrina

La parte endocrina está constituida por los islotes de Langerhans, los cuales se caracterizan por tener una gran vascularidad constatada por un conglomerado de células sanguíneas y endoteliales. Los islotes se muestran en diferentes tamaños y formas, distribuidos de forma desigual en el parénquima del páncreas (Panesi, 2016).

Los islotes se ubican en ambos lóbulos distribuyéndose de forma aleatoria, sin guardar relación con el sistema de tubos y tienen una disposición uniforme parecida en otros animales según mencionan Cebra *et al.*, (2006), Hazelwood, (1989) y Xu *et al.*, (1999). Estos se encuentran localizados en el tejido “intralobular” a diferencia de las vacas que se encuentran en el tejido “interlobular” (Bonner & Like, 1980; Cebra *et al.*, 2006).

Cabrera *et al.* en el 2006, mencionan que los “islotes de Langerhans” están compuestos por un gran número de células acordonadas poliédricas próximas a los capilares fenestrados y envueltos por una membrana basal en la región adyacente a dichos capilares. Métodos como la inmunohistoquímica especializada y tinción, pueden identificar hasta 4 tipos de células: alfa (α), beta (β), delta (δ) y células PP (polipéptido pancreático), que en caso de los humanos se presentan de manera dispersa e irregular y de forma irregular también se mezclan en el islote.

A través de la inmunohistoquímica fue registrado el péptido PP y se clasificó en dos tipos de células morfológicamente diferentes: células PP inmunoreactivas ubicadas en el extremo ventral del páncreas (antes conocidas como células F), que tienen la particularidad de tener gránulos secretores redondos y angulares. En tanto que las células D1 provistas de gránulos pequeños fueron observadas en la parte dorsal del páncreas (Larsson *et al.*, 1974).

Bloom & Polak en 1987, mencionan que las células δ (delta) en humanos constituyen del 5 al 10% del volumen del islote, mientras que en conjunto las células principales (alfa, beta, delta y PP) representan el 60% del islote, y el resto corresponden a neuronas, células de tejido conectivo y endoteliales, que incluyen a los fibroblastos y macrófagos. La estructura de éstas células varía entre especies, pero en general se puede decir que las células alfa y delta son ubicadas en la superficie y rodean a las células beta que están dentro del islote. El islote es dividido en unidades por grandes vasos; cada unidad tiene una parte central formada por células beta que son rodeadas a su vez por células alfa y delta. Esta distribución puede inferir que existen correlaciones funcionales entre diferentes tipos de células (Vara, 2011).

Huaynates (2015) menciona que las alpacas inician el proceso de diferenciación celular del páncreas durante la etapa fetal. Las células que conforman los islotes derivan de células pluripotentes, durante el desarrollo y posteriormente en la vida del animal. La organogénesis pancreática implica entonces, una variedad de eventos estimulantes que se asocian a la activación de ciertos factores específicos de transcripción; además, el desarrollo de células endocrinas se basa en una secuencia de acciones de diversos factores de transcripción celular para así asegurar una normal génesis del órgano y una futura distinción de las diferentes células endocrinas (Wang *et al.*, 2001).

4 Fisiología pancreática

El tejido exocrino es el principal constituyente del páncreas organizándose en acinos, los cuales segregan zimógenos a nivel del lumen intestinal con fines digestivos; mientras que la otra parte del páncreas está conformada por los islotes de Langerhans, que están formados por diferentes tipos de células endocrinas asociadas al tejido exocrino. Por ello se dice que el páncreas es un órgano bifuncional (Slack, 1995).

4.1 Funcionamiento exocrino

En los acinos se secreta el jugo pancreático que provee enzimas digestivas: tripsina, quimiotripsina y carboxipeptidasa, los cuales degradan proteínas a aminoácidos; ribonucleasas y desoxiribonucleasas que dividen las nucleoproteínas. Las enzimas inactivas en gránulos de zimógeno se encuentran dentro de los acinos, envueltos con una membrana que evita la autodigestión de la glándula. La lipasa pancreática segregada convierte los triglicéridos a glicerol y la amilasa pancreática hidroliza el almidón, glucógeno y los demás hidratos de carbono. Las enzimas proteolíticas se secretan y sintetizan como proenzimas inactivas, las cuales al entrar en contacto con el lumen intestinal se activan gracias a las enteroquinasas (Lis *et al.*, 2003).

4.2 Funcionamiento endocrino

Kitabchi *et al.*, (2009) mencionan que el páncreas produce importantes hormonas a través de sus cuatro tipos de células. Las células alfa sintetizan el glucagón cuando se produce una baja nivel de glucosa, las células beta segregan insulina como respuesta a un aumento de glucosa en sangre, reduce su nivel propiciando la entrada de glucosa en tejido muscular y adiposo e inhibe su liberación del hígado. La somatostatina es producida por las células delta, pero también por neuronas del “hipotálamo” y por células de función endocrina en la mucosa intestinal. Sam *et al.*, (2015) menciona que las Células PP (Polipéptido pancreático) disminuyen la ingestión de alimento generando saciedad, además actúa en la vesícula biliar regulando su contracción y también regula a la porción exocrinas del páncreas.

4.2.1 Somatostatina

El principal efecto de la somatostatina (SST) es modular la asimilación de sustratos a nivel intestinal, por medio de la inhibición del funcionamiento exocrino y motor del “tracto gastrointestinal”. Asimismo, puede indirectamente regular la respuesta proporcional de hormonas como glucagón e insulina, según la necesidad y de que los sustratos que proveen energía estén disponibles. De hecho, la regulación que puede existir entre estas hormonas es compleja, por lo que la somatostatina puede generar inhibición con las otras dos hormonas (Arteaga *et al.*, 1997), tal como lo comprobaron Brazeau *et al.* (1973), quienes registraron que la SST aislada del hipotálamo inhibe la producción de glucagón e insulina, actuando de manera paracrina.

La somatostatina tiene una amplia distribución en el organismo, Chanclón (2013) ha descrito la presencia de esta hormona en diversas regiones del “sistema nervioso central” (SNC), al igual que otros tejidos nerviosos periféricos. Esto se justifica debido al efecto de inhibición que ejerce sobre los tejidos diana, y su acción represora para liberar “la hormona del crecimiento (hormona GH)”, siendo conocido que la somatostatina además de modular la secreción endocrina de múltiples tejidos, actúa en el eje hipotálamo-hipofisario regulando la liberación de otras hormonas como son la corticotropina (ACTH), la prolactina (PRL), y la tirotropina (TSH), tal como indican Patel, (1999); Moller *et al.*, (2003) y Gahete *et al.*, (2010).

La SST también actúa expandiéndose hasta el “tracto gastrointestinal” con la finalidad de producir inhibición de la secreción de hormonas como colecistoquinina (CCK), péptido intestinal vasoactivo (VIP), péptido inhibidor gástrico (GIP), gastrina, secretina, ghrelina, motilina, neurotensina y de la pepsina, hechos mencionados por Patel, (1999); Moller *et al.*, (2003) y Olias *et al.*, (2004). También se sabe que en el páncreas, la SST actúa inhibiendo la secreción de otras hormonas pancreáticas como son el glucagón, la insulina, el polipéptido pancreático, tal cual lo indican Gahete *et al.*, (2010) y Chanclón *et al.*, (2012).

Se ha registrado que la somatostatina juega un rol importante también inhibiendo la secreción de la “glándula salival”, de los acinos del páncreas, en la “mucosa intestinal”, y otros

órganos secretores (Corleto, 2010) Sin embargo, recientemente se ha descubierto en Córdoba-Chacón *et al.* (2012), que la liberación de “hormona del crecimiento” no solo depende de la dosis sino que también depende que tan específico es la unión a sus receptores.

La somatostatina también está involucrada en la regulación de procesos neurotransmisores del sistema nervioso central a través de la inhibición o liberación de dopamina o norepinefrina, repercutiendo en las sensoriales, locomotoras y cognitivas según lo indican Patel, (1999); Luque *et al.*, (2008) y Gahete *et al.*, (2010). Incluso existen estudios como Epelbaum *et al.* (2009) en donde se ha registrado que las variaciones en los niveles de este péptido pueden estar asociados a las enfermedades neurodegenerativas, como lo son el Alzheimer y Parkinson.

Si bien la SST cumple un rol importante como neuromodulador de las funciones endocrinas y exocrinas del SNC, también tiene efectos sobre cuanto demora el tránsito del alimento en el “intestino delgado”, afectando el vaciado gástrico temprano y tardío, ya que puede provocar un aceleramiento o retraso de estos respectivamente (Moller *et al.*, 2003). De igual forma, este tipo de comportamiento ha sido observado en tejidos cardiovasculares, de acuerdo a lo descrito en Murray *et al.* (2001) el nivel alto o bajo de SST puede conducir a una buena o mala respuesta de los cardiomiocitos para la contracción de los ventrículos.

Krantic *et al.* (2004) mencionan como otra importante función de la somatostatina, el control negativo sobre la secreción de inmunoglobulinas, monocitos y basófilos, en la regulación del desarrollo de “linfocitos T y B”, dependiente de la dosis. Este péptido cumple con funciones en la fisiología normal del individuo, pero también actúa en regular enfermedades y tumores (Klaff, 1987; Strowski y Blake, 2008).

4.2.2 Polipéptido pancreático

Brandan *et al.* (2006) mencionan que una de las funciones importantes del polipéptido pancreático (PP) es regular actividades endocrinas en el tracto gastrointestinal, a través de su efecto sobre la secreción pancreática exocrina y el vaciado de la vesícula biliar. Asimismo, se ha observado que este polipéptido es producido en otras regiones corporales como en el “intestino delgado”, en el “cerebro” y en los ganglios del “sistema nervioso autónomo” (SNA). El PP actúa de regulador en el proceso de absorción intestinal, se produce cuando hay una mayor ingestión de proteínas, ayuno, hipoglucemia aguda y el ejercicio, proporcionando una curva de absorción más suave durante la digestión. Cuando se administra glucosa intravenosa o somatostatina la liberación de este compuesto se ve inhibida. Sin embargo, también ha sido visto que la atropina afecta su concentración de manera colinérgica disminuyendo su nivel en sangre (Lis *et al.*, 2003).

En el contorno de los islotes de Langerhans se libera este péptido en las células PP, al igual que en células acinosas y ductales; además de tener alta presencia en las regiones cefálica y corporal del páncreas. Un factor estimulante para que se produzca la secreción de este compuesto es la ingestión alta de proteínas, y puede prolongarse durante varias horas, estando bajo control neurohormonal; a nivel intestinal la colecistoquinina (CKK) también estimula la liberación de este péptido a través de la inervación vagal. En contraste, la liberación de PP se ve afectada por la atropina y la vagotomía troncular (Gutiérrez, 1988).

Estudios realizados “*in vitro*” demuestran que este polipéptido incentiva la secreción enzimática, favoreciendo las acciones paracrinas en las células acinosas y ductales, por lo que se produce un incremento post-prandial del PP; sin embargo, esta función pasa desapercibido por las otras acciones que éste realiza en la forma circulante. En el caso del ser humano, este péptido tiene un efecto sobre la segregación pancreática exocrina y del débito duodenal de la bilis (Gutiérrez, 1988).

5. Inmunohistoquímica

Yang *et al.*, en el 2011, indica que la técnica de “inmunohistoquímica” (IHQ) proporciona la capacidad de identificar tejidos y células antígenas que pertenecen a los diversos procesos de función normal y en la diferenciación de las células. Aplicando directamente anticuerpos específicos primarios, sean monoclonales o policlonales, en los tejidos, se puede obtener la expresión en su localización microanatómica así como establecer una correlación con algunos parámetros de la morfología del órgano, permitiendo esto aumentar la sensibilidad y especificidad del estudio en cuestión; esta técnica presenta una alta especificidad debido a la unión tipo antígeno-anticuerpo.

Baskin (2015) menciona que anteriormente al uso de técnicas de IHQ, se tenía dificultades para identificar los componentes celulares de los “islotes de Langerhans”, debido a la falta de tinción de células alfa y células beta por lo que fueron denominados como “Third cell type”, posteriormente llamados “Islotes ricos en células PP”

Actualmente con el uso de técnicas de IHQ y la inmunofluorescencia se puede identificar en diferentes especies todos los tipos celulares (Chuan *et al.*, 2015).

Así mismo, es posible identificarlas por métodos tales como:

- Tinción de Mallory-azan que permite identificar las células delta con el teñido azulino del citoplasma de las células delta distinguiéndolas de las células alfa y beta (Bergman *et al.*, 1989).
- Tinción de Tricómico-PAS (ácido peryodico de Schiff), que tiñe las células delta de un verde translucido (McManus y Mowrery, 1960).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Material de estudio

Para esta tesis, empleamos 30 páncreas de alpacas de raza Huacaya provenientes de Cusco y Puno. El material fue separado en 5 grupos, según el siguiente detalle de edad de los animales:

Grupo 1: Recién nacidos sin toma de calostro.

Grupo 2: 1 -2 semanas de edad.

Grupo 3: 1 mes de edad.

Grupo 4: 4 meses de edad.

Grupo 5: Juveniles, entre 1 y 2 años.

Grupo 6: Adultos, mayores de 2 años.

Términos de ética: todas las alpacas utilizadas en este trabajo fueron obtenidas de comunidades alpaqueras, descartadas por su fenotipo o destinadas a beneficio.

El material de estudio fue trabajado primeramente en la estación IVITA- MARANGANÍ en el Cusco, para luego ser trasladados al Laboratorio de Anatomía Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM en Lima.

2 Metodología

2.1.- Colección de muestras:

En base a la edad de los individuos se registraron y designación en un determinado grupo.

La eutanasia fue realizada utilizando una sobredosis de pentobarbital sódico, por vía endovenosa (vena yugular) con una concentración de 10 mg/Kg. Una vez eutanasiado el espécimen, el desangrado se ejecutó exponiendo la “vena yugular externa” y la “arteria carótida común”.

Las muestras del páncreas fueron conservadas en formaldehído al 10%, y transportándose a Lima, al laboratorio de Anatomía Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM para su procesamiento y separar las muestras en el tamaño para el estudio.

Los páncreas fueron reducidos en ocho segmentos como sigue, base, medio y extremo del páncreas izquierdo; lo mismo en el páncreas derecho; y extremo y base del cuerpo pancreático; haciendo un corte transversal de aproximadamente 3 mm, para luego preparar bloques en parafina.

Posteriormente, se prepararon en láminas de carga positiva “Globe Scientific Inc.” cortes de aproximadamente 5µm de espesor de tejido “en blanco” usando un micrótopo.

2.2.- Anticuerpos y reactivos:

Los anticuerpos y reactivos utilizados, se enlistan en los cuadros 1 y 2. Estos fueron empleados según las especificaciones dadas por los fabricantes. El protocolo usado para la técnica de inmunohistoquímica fue la ABC (Anexo 1), para así identificar las células δ (delta) y las PP en las láminas “en blanco”.

Cuadro 1.- Inmunohistoquímica del páncreas endócrino de alpacas: anticuerpos usados y dilución empleada.

Anticuerpo usado	Reacción en	Laboratorio	Dilución usada	Cat. N°
“Anti-Pancreatic Polypeptid” (Polyclonal)	Bovino	“US Biollogical Life Sciences”	1 : 500	P3000-01
“Anti-SSTR3” (Polyclonal)	Humano	“US Biollogical Life Sciences”	1 : 500	335588

Cuadro 2.- Reactivos empleados para la inmunohistoquímica en páncreas endócrino de alpacas.

Reactivo	Laboratorio	Dilución usada	Cat. N°
“ImPACT DAB and Peroxidase Substrate”	“Vector Laboratories, Inc.”	30 µl DAB para 1ml. de diluyente.	“SK-4105”
“Vectastain ABC KIT”	“Vector Laboratories, Inc.”	Listo para uso.	“PK-6100”

2.3.- Inmunohistoquímica:

La técnica de Inmunohistoquímica constituye un tratamiento en el que las láminas son sometidas a un proceso para desparafinar con un sustituto de xilol (Neo Clear), por dos ocasiones, cada uno de 10 minutos. Posteriormente, las láminas fueron hidratadas dos veces en etanol al 100%, para bloquear la peroxidasa endógena durante un periodo de 30 minutos se utilizaron metanol (200 ml) y agua oxigenada (4 ml).

Las muestras fueron hidratadas en 2 ocasiones con alcohol de 96°, 1 vez con alcohol de 70° y otra con alcohol de 50°, durante 5 minutos cada una. Se continuó con lavados en un buffer PBS en número de tres, cada uno de cinco minutos. Se realizó recuperación del antígeno usando un buffer citrato, que fue estandarizado a un pH 6 usando HCl; las láminas fueron colocadas en esta solución llevadas al horno microondas (750 watts) por el tiempo de diez minutos. Tres nuevos lavados fueron realizados con solución PBS por 5 minutos.

A temperatura ambiente utilizando “Albumina de Suero Bovino” (BSA 1%) se inactivaron las uniones inespecíficas en una cámara húmeda durante 30 minutos. En la cámara húmeda se aplicó los anticuerpos primarios para somatostatina y para PP, ambos en dilución al 1:500,

dejándolos hasta el siguiente día. Luego, se realizaron 3 lavados con PBS durante 5 minutos, finalmente durante 30 minutos se incubó con un anticuerpo secundario e nuevamente lavados en buffer PBS.

Antes de revelarlo usando 3,3'-Diaminobenzidina (DAB), el sustrato AB fue aplicado empleando una cámara húmeda a temperatura ambiente durante 30 minutos, y luego se procedió a lavar en buffer PBS tres repeticiones, durante cinco minutos cada uno. La marcación se presentó a los 15 minutos para polipéptido pancreático y 20 minutos para la somatostatina, por lo que usando agua corriente se cortó la reacción. Previa utilización del colorante Hematoxilina de Harris por cinco segundos, se enjuagó usando “agua corriente” y luego se usó “agua destilada” cada uno por cinco minutos. El exceso de la coloración se eliminó usando “agua corriente”.

Se deshidrató mediante dos repeticiones de cinco minutos cada uno en alcohol creciente, empezando al 50°, 70°, 96°, etanol al 100% y finalizar con Neo Clear, para luego montar las láminas en Bálsamo de Canadá durante 10 segundos, dejándose secar por 48 horas y luego limpiar las láminas del excedente del pegamento.

Como control positivo de la detección de somatostatina y PP se usó una muestra pancreática de rata adulta, pues Elayat *et al.*, (1995) publicó resultados en esta especie.

2.4 Lectura de láminas:

Se registraron todos los hallazgos empleando un microscopio trinocular con cámara incorporada (AmScope, USA), . La lectura fue realizada con objetivo de 10x y 40x; y el programa para registrar las imágenes fue proveído por la empresa “AmScope” en una computadora.

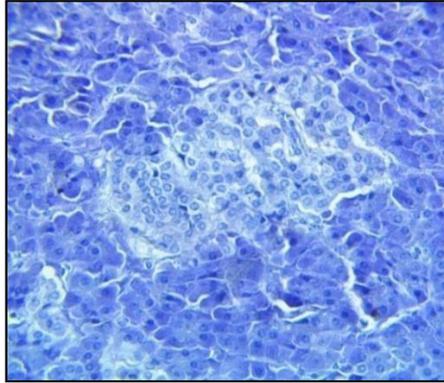


Figura 1. Islote pancreático de alpaca - coloración hematoxilina 40x

La lectura fue realizada en zigzag para no repetir los campos. Se contabilizaron los islotes totales hallados y los que presentaron una marca positiva a la hormona (coloreadas de dorado claro a marrón oscuro), con el objetivo de medir que proporción del islote contiene dicha hormona.

Se clasificó la tinción de forma cualitativa como 0= no hubo inmunomarcación; 1= inmunomarcación leve; 2= inmunomarcación moderada y 3= inmunomarcación fuerte. Finalmente, se compararon los resultados observando las variaciones en las diferentes secciones del páncreas y por edades de los individuos en estudio.

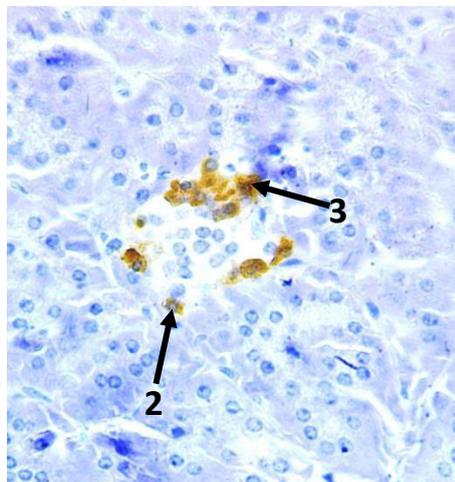


Figura 2.- Marcación positiva, principalmente en grado 2 hasta 3, a polipéptido pancreático en islotes endocrinos en páncreas de alpaca. (IHQ, 40x).

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

Los islotes fueron hallados en diferente tamaño y forma, con células variables en proporción y número. Los "islotes de Langerhans" fueron observados dispersos por todo el tejido pancreático y se observaron en los cortes secciones como masas irregulares de células. Esta descripción de la forma difiere con la información de los islotes pancreáticos en otras especies domesticas en general. El tamaño de los islotes mostró una variación considerable dentro de la misma especie.

Se distinguieron áreas de células pálidas clasificadas como islotes que se encontraban infiltradas por una rica vasculatura y tienen alrededor tejido pancreático exocrino de color más oscuro. En el páncreas exocrino se hallaron células endocrinas individuales, y la disposición de las células de los islotes estaban distribuidas en grupos con una perspectiva tridimensional.

Se buscaron dos tipos de células que pudieron distinguirse sobre la base de la reacción inmunohistoquímica de las hormonas producidas por las células delta (somatostatina) y PP (polipéptido pancreático) presentes en su citoplasma. Se hizo pruebas de control de los anticuerpos en páncreas de ratas tanto en el caso de polipéptido y somatostatina (figuras 3 y 4, respectivamente) en los que se observó la presencia de ambos tipos celulares en el contorno de los islotes con una marcación leve, en grado 1, conforme a lo observado en anteriores estudios (Steiner, 2010).

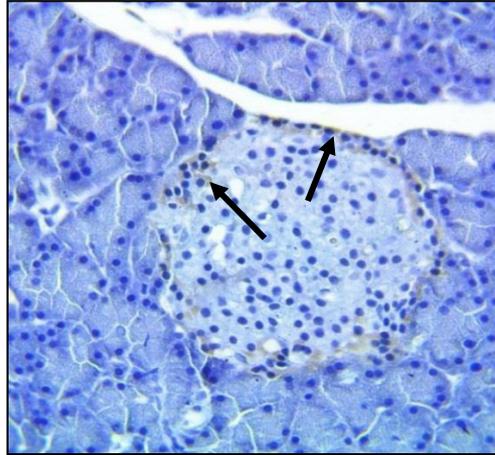


Figura 3. Control positivo de polipéptido pancreático (PP) en páncreas de ratas. (IHQ, 40x).

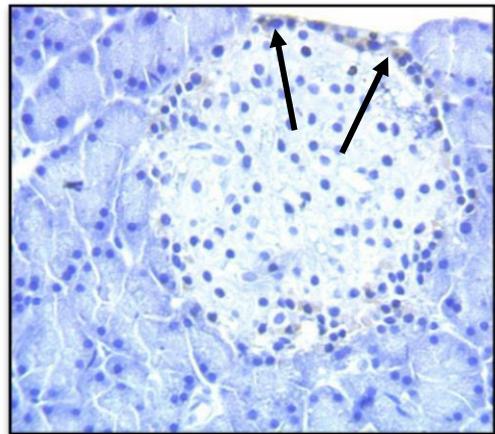


Figura 4. Control positivo de somatostatina (delta) en páncreas de ratas. (IHQ, 40x).

A pesar de tener un solo campo de observación, las células endocrinas variaban de islote a islote. Las células PP mostraron una mayor presencia entre ambos tipos de células en los islotes observados.

En el caso de las células PP se observó una baja distribución uniforme y una gran variabilidad. Este tipo de célula se observó individualmente o en grupo alrededor del islote, a veces formando una corona alrededor de las células centrales en caso de células presentes en gran número. La mayor concentración de estas células fue registradas a nivel del cuerpo y lóbulo derecho de la población de estudio. Se pudo observar que en los animales juveniles y mayores se acentuó la presencia de estas células tanto en páncreas derecho y en el cuerpo del páncreas (Figuras 5 a 10).

El grado de marcación observado fue principalmente en grados 1 y 2, con una respuesta entre leve y media para la presencia del PP, además se pudo identificar la presencia “Islotes ricos en células PP” indistintamente en los diversos sectores del páncreas (ver figura 10), mencionados en estudios previos (Baskin, 2015). El porcentaje de marcación positiva en islotes del páncreas para células PP según grupo, son descritos en el cuadro 3.

Observamos que tanto el lóbulo derecho como el cuerpo del páncreas contienen un fuerte porcentaje de células PP, las que se distribuyen en la periferia y dentro del islote endocrino.

Cuadro 3.- Porcentaje de marcación positiva en islotes del páncreas para células PP.

Sección pancreática	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6
Lóbulo Izquierdo	90%	40%	36%	90%	28%	36%
Lóbulo Derecho	41%	59%	63%	83%	50%	69%
Cuerpo	63%	90%	91%	100%	55%	43%

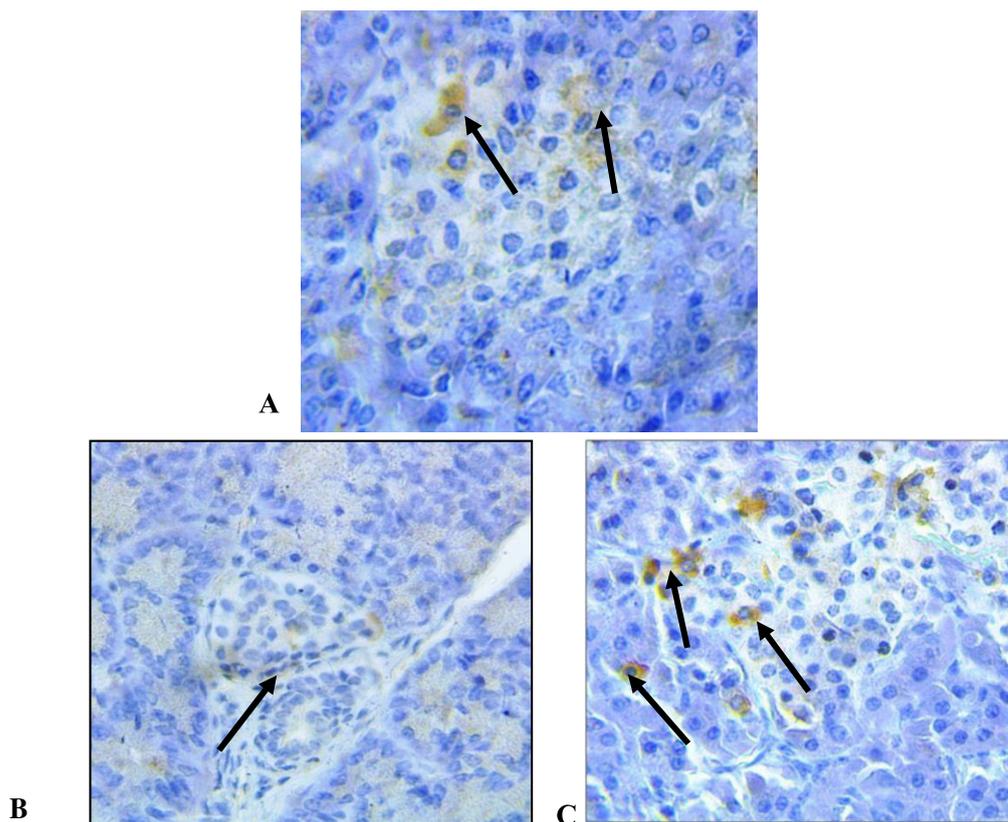


Figura 5. Inmunomarcación positiva de células PP presentes en páncreas izquierdo (A), páncreas derecho (B) y cuerpo pancreático (C) en alpacas recién nacidas (Grupo 1). (IHQ, 40x).

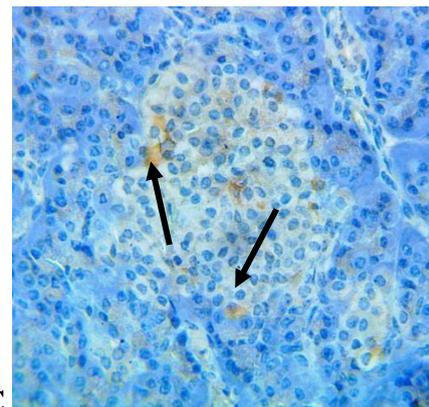
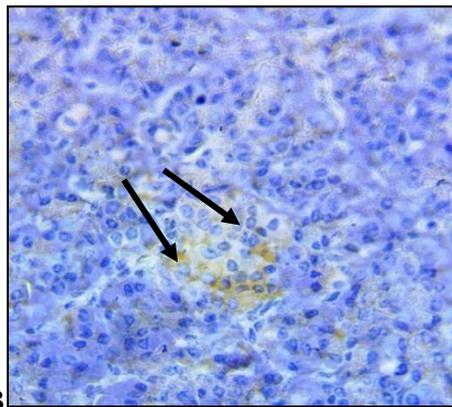
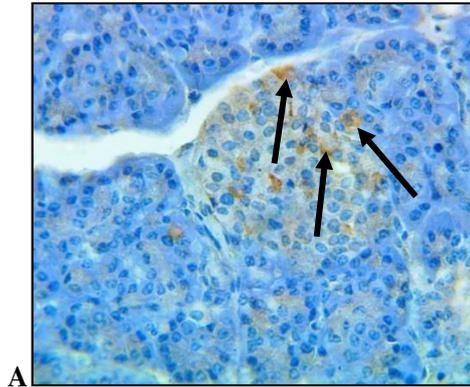


Figura 6. Inmunomarcación positiva de células PP presentes en páncreas izquierdo (A), páncreas derecho (B) y cuerpo pancreático (C) en alpacas crías entre 1 y 2 semanas de edad (Grupo 2). (IHQ, 40x).

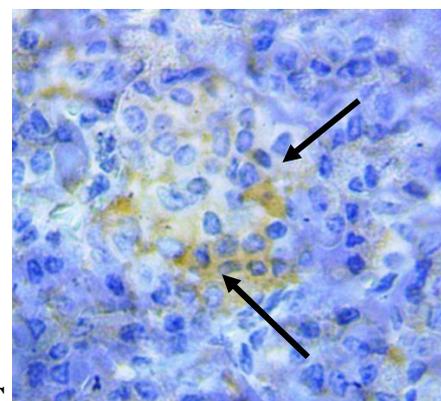
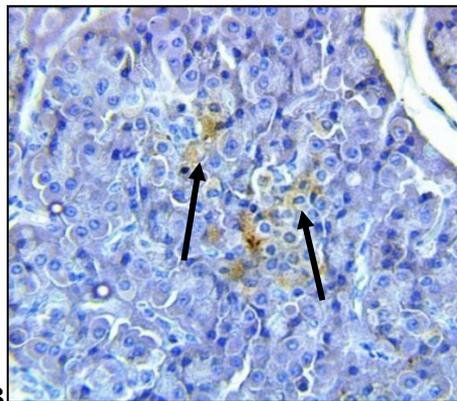
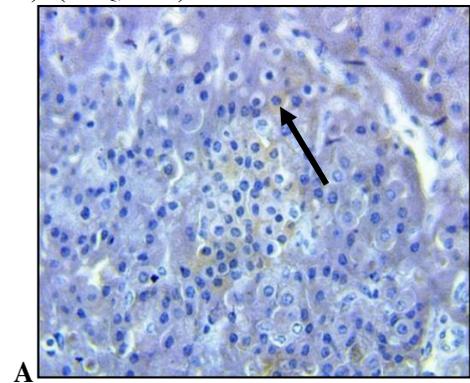


Figura 7. Inmunomarcación positiva de células PP presentes en páncreas izquierdo (A), páncreas derecho (B) y cuerpo pancreático (C) en alpacas crías de 1 mes de vida (Grupo 3). (IHQ, 40x).

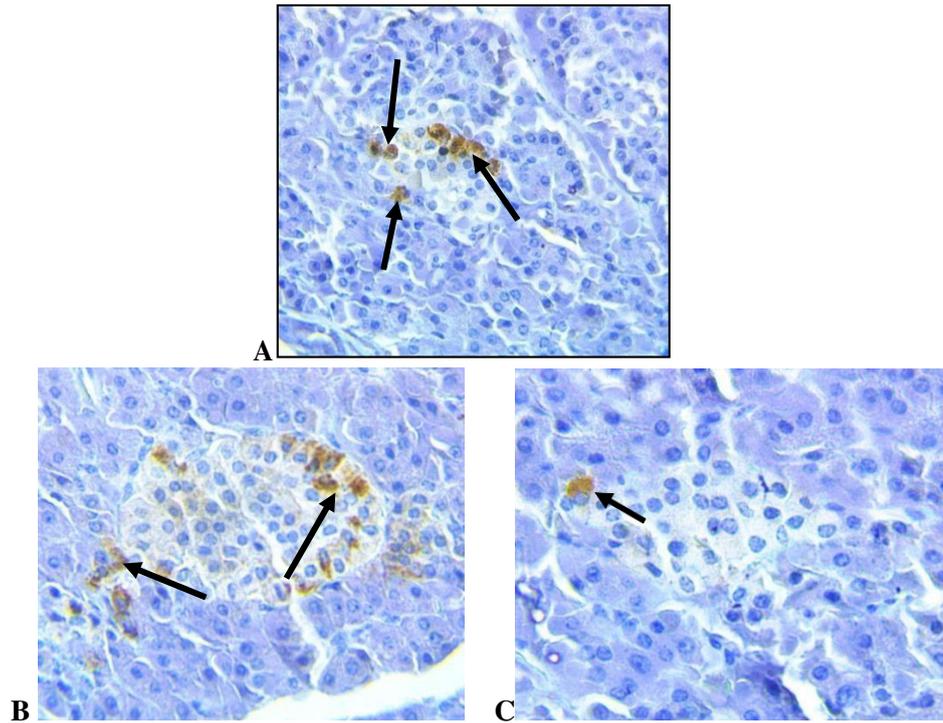


Figura 8. Inmunomarcación positiva de células PP presentes en páncreas izquierdo (A), páncreas derecho (B) y cuerpo pancreático (C) en alpaca de 4 meses de vida (Grupo 4). (IHQ, 40x).

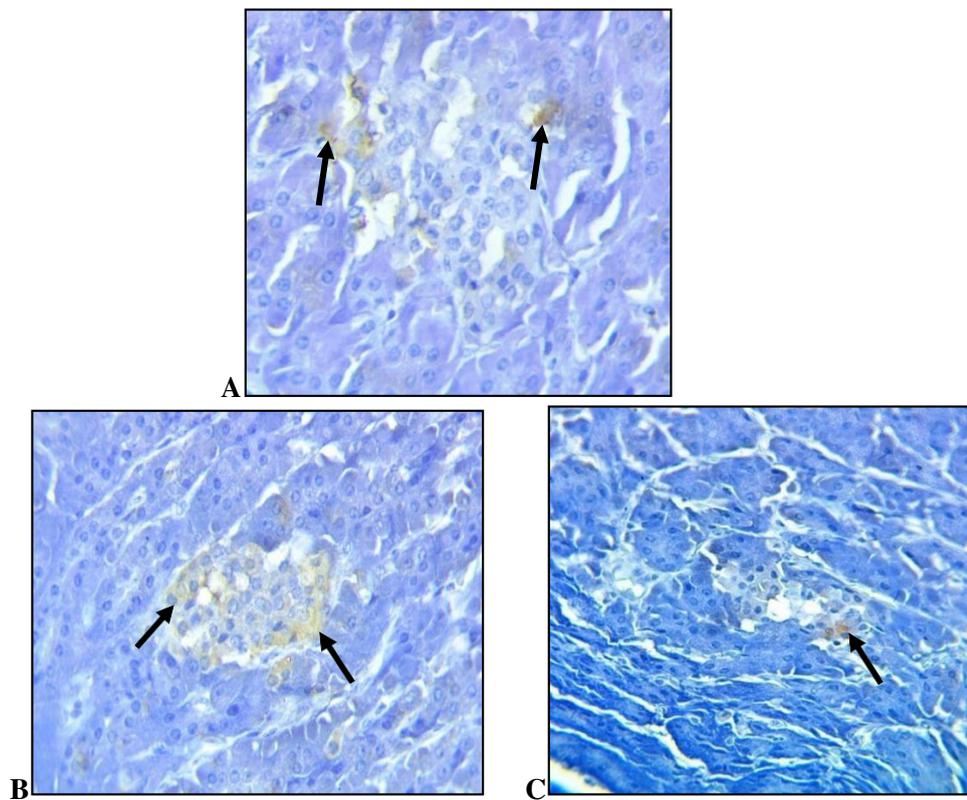


Figura 9. Inmunomarcación positiva de células PP presentes en páncreas izquierdo (A), páncreas derecho (B) y cuerpo pancreático (C) en alpaca joven, entre 1 y 2 años de edad (Grupo 5). (IHQ, 40x).

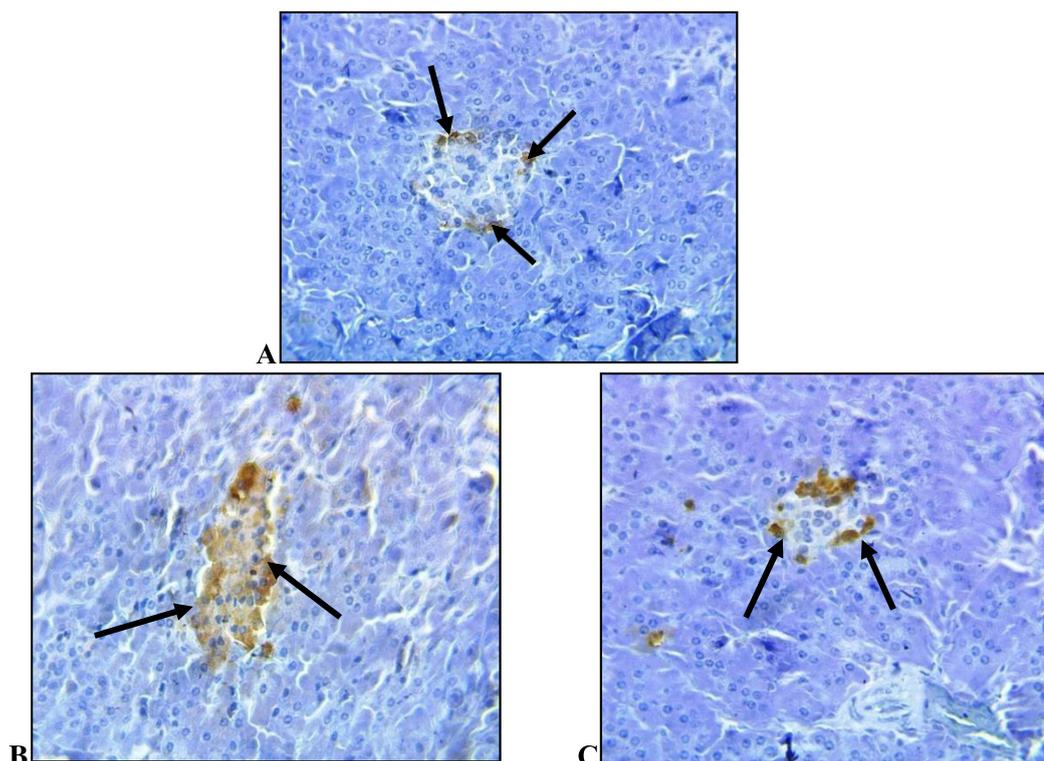


Figura 10. Inmunomarcación positiva de células PP presentes en páncreas izquierdo (A), páncreas derecho (B) y cuerpo pancreático (C) en alpaca adulta, mayor a 2 años de edad (Grupo 6). (IHQ, 40x).

En cuanto a la cantidad de δ (delta), que producen somatostatina, se registró baja frecuencia al ser evaluados todas las edades y secciones obtenidas. Sin embargo, pudo identificarse células delta en individuos muy jóvenes entre recién nacidos y 4 meses de edad, en los que se encontraron células con tinción positiva de baja intensidad a somatostatina, marcación grado 1.

Cuadro 4.- Porcentaje de marcación positiva en islotes del páncreas para células delta.

Sección	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6
Páncreas Izquierdo	25%	25%	13%	22%	5%	0%
Páncreas Derecho	3%	23%	32%	30%	5%	0%
Cuerpo pancreático	0%	3%	25%	5%	0%	0%

Como se puede observar, las células delta se hallaron en ambos lóbulos del páncreas y con mayor frecuencia en animales de menor edad, probablemente porque aún se encuentran en crecimiento, lo que provoca una mayor variación de somatostatina y sus antagonistas (Figuras 17

a 20). En el grupo 5 y 6 (animales juveniles y adultas), la presencia de células delta fue muy débil.

En el caso de recién nacidos (grupo 1) a juveniles (grupo 5) se reconocieron células delta en la periferia del islote, no obstante, también se observaron en el centro; mientras que en alpaquitas del grupo 2 y crías del grupo 4 y para alpacas adultas (grupo 6) no se observó su presencia.

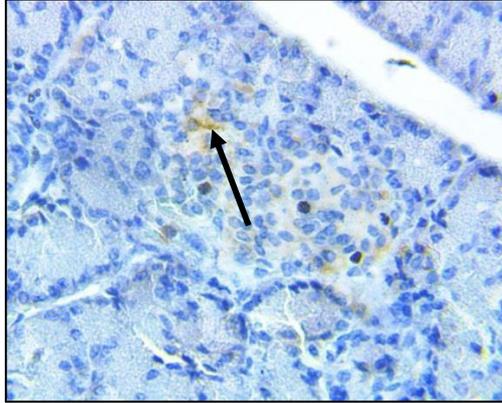
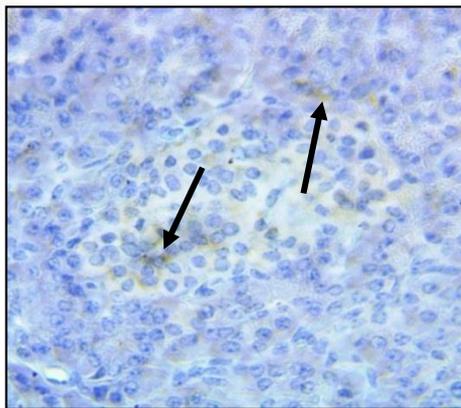
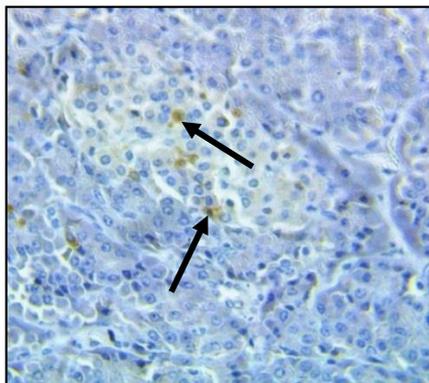


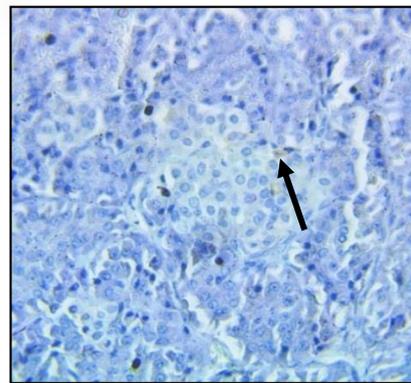
Figura 11. Inmunomarcación positiva de células δ (delta) presentes en páncreas izquierdo en alpacas recién nacidas (Grupo 1). (IHQ, 40x).



A



B



C

Figura 12. Inmunomarcación positiva de células δ (delta) presentes en páncreas izquierdo (A), páncreas derecho (B) y cuerpo pancreático (C) en alpacas crías entre 1 y 2 semanas de edad (Grupo 2). (IHQ, 40x).

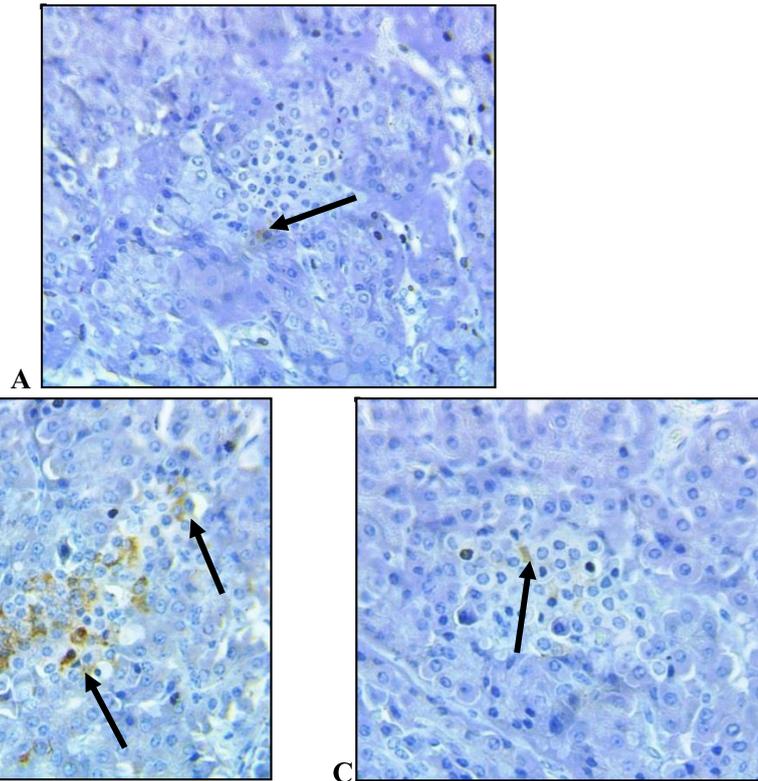


Figura 13.- Inmunomarcación positiva de células δ (delta) presentes en páncreas izquierdo (A), páncreas derecho (B) y cuerpo pancreático (C) en alpacas de 1 mes de vida (Grupo 3). (IHQ, 40x).

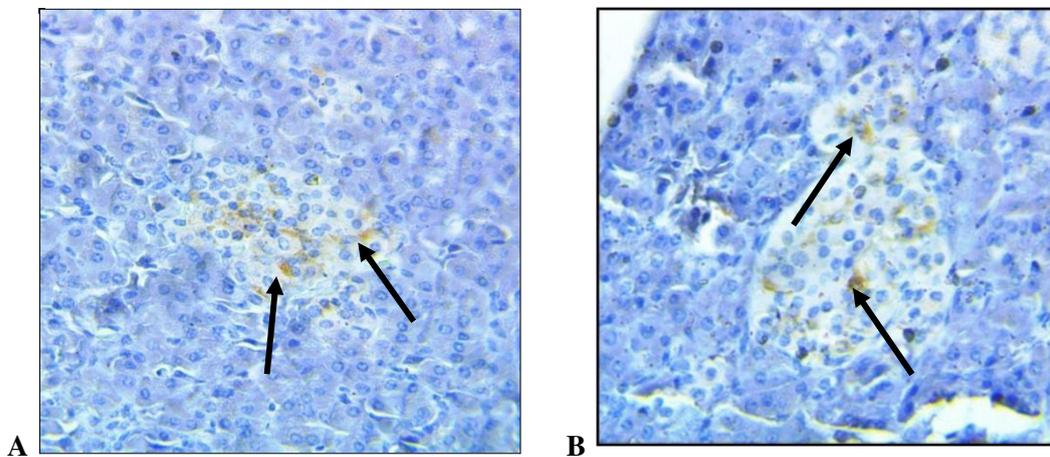


Figura 14.- Inmunomarcación positiva de células δ (delta) presentes en páncreas izquierdo (A) y páncreas derecho (B) en alpacas de 4 meses de vida (Grupo 4). (IHQ, 40x).

Estudios previos han registrado alteraciones en cuanto a la presencia y distribución de las células δ (delta) y células PP en los “islotos de Langerhans”, así Hafez *et al.* (2015) menciona una diferencia clara en cuanto a la proporción de células beta y alfa que es mayor en camellos y equinos en comparación a los vacunos, donde las células beta y PP son las predominantes.

En el caso de bovinos, equinos y camellos estas células se distribuyeron en la periferia de los islotes pancreáticos (Helmstaedter *et al.*, 1976; Bonner-Wier y Like, 1980; Al Ani, 1987; Furuoka *et al.*, 1989). Ali y Masaad (2007) determinaron que estas células pueden ubicarse central o periféricamente, semejante a lo encontrado en el presente estudio. Actualmente, se ha registrado que tanto las células δ (delta) y PP pueden situarse en casi todo el “islote pancreático”, como es en el caso de camellos y caballos, mientras que en bovinos se hallan en la periferie del islote según menciona Hafez *et al.*, (2015).

En cuanto al ganado vacuno, los islotes endocrinos contienen a las células beta en posición central, siendo las de mayor número, aunque algunas veces las células beta pueden extenderse hacia la periferia, esta masa central se rodea principalmente de células alfa. Las células delta se ubican en la periferia del islote pancreático y en ocasiones se dispersan hacia el centro; mientras las células PP suelen situarse en la periferie del islote pancreático según menciona Bonner-Wier y Like, (1980).

Hiratsuka *et al.* (1996) reportaron que existen islotes con un gran número de células alfa, los cuales se caracterizan por tener mayores proporciones de células delta; y los islotes con gran cantidad de células PP y beta, que son frecuentes en aquellos que contienen bajos números de células alfa.

Khatim *et al.*, (1985) y Zghair, (2016) mencionan que en camellos dromedarios (*Camelus dromedarius*), los “islotes de Langerhans” se caracterizan por presentar células beta distribuidas en la parte central, rodeados en su mayoría por células alfa mientras que las células delta se encuentran en poca cantidad. El polipéptido pancreático lo encontraron dentro del islote y tejido exocrino.

En el caso de los equinos (*Equus caballus*) suelen tener mayor población de células β en el islote, formando un manto en torno al centro de este. En el centro del islote existen células alfa que forman una masa, rodeadas casi enteramente una capa de células productoras de insulina, según menciona Helmstaedter *et al.*, (1976) y Ito *et al.*, (1978). En caso de las células delta, en el páncreas del caballo, se pueden distribuir en la periferia del islote, alrededor de las células beta o entre células alfa y beta del islote de manera discontinua, según indica Forssmann (1976), en cambio, Furuoka *et al.*, (1989) indica que las células PP se ubican eventualmente en el contorno del islote.

Las células β conforman la principal población endocrina en cabras (*Capra aegagrus hircus*), que se ubican centralmente, mientras que en la periferia se pueden observar las células alfa. Por otro lado, de forma grupal y presentes en el interior y periferia del islote se encuentran las células delta, mientras que las células PP se ubican en grupos numerosos dentro del islote pancreático según menciona Reddy *et al.*, (1985).

Reddy *et al.* (1988) estudiaron las células endocrinas pancreáticas en el feto y el desarrollo de los islotes, indicando que a los 40 días de gestación en ovinos domésticos (*Ovis aries*) las células PP solo estaban disponibles como células individuales. Conforme el feto se desarrolla, también aumenta la presencia de células PP. Estas células están situadas periféricamente, y ocasionalmente pueden ubicarse al centro del “islote pancreático”. En el caso de las células delta, refleja la misma figura que las células PP, con una pequeña proporción de células delta de desarrollo temprano, que se encuentran periféricamente y centralmente, con el islote en desarrollo, y en número superior en etapas posteriores del desarrollo fetal.

Se han reportado islotes con un tipo de celular particular en algunas especies, tales como un estudio en caninos en el que se identificó grupos celulares que fueron denominadas “islotes de Langerhans ricos en células alfa” e “islotes de Langerhans ricos en células PP”, ambos se encuentran en una relación inversa (Muranishi *et al.*, 1999). Chuan *et al.*, (2015) observaron esta misma característica en marsupiales, aves y monotremas. Mientras, Wang *et al.* (2013) determinaron que en humanos un área menor del 2% del páncreas es rico en células PP.

Según Hellerstrom *et al.*, (1988); Finegood *et al.*, (1995) y Montanya *et al.*, (2000), indican que el estado fisiológico del animal se puede influir por la proporción entre células PP y delta, según se trate de un adulto macho o hembra, una hembra gestante en principio o a término, un animal juvenil o una cría, que va a tener diferentes necesidades de las hormonas estudiadas según sus necesidades fisiológicas. Se han reportado que nuevas células pueden formarse a causa de neogénesis, la diferenciación de células endocrinas en el epitelio ductal del islote o por replicación de las mismas células ya existentes en el islote pancreático. Otros estudios realizados en islotes pancreáticos de ovejas de raza Mehraban encontraron que estos islotes variaban según la edad y estado de los animales. Alcanzando su mayor tamaño en animales recién nacidos, sexualmente maduros, viejos y fetos, de mayor a menor en ese orden (Mansouri *et al.*, 2006).

Las publicaciones de Kim *et al.*, (2009) y Steiner *et al.*, (2010) que reúnen informes sobre estudios en páncreas de roedores, humanos, primates, gatos, perros, caballos, cabras, ovejas, cerdos, camellos, conejos, búfalos, elefantes, marsupiales, aves, reptiles, anfibios y peces, señalaron que la constitución de los islotes variaba dentro de una misma especie; observando una amplia gama de morfologías en diversas condiciones fisiológicas, incluyendo el embarazo, la obesidad y la diabetes. Por lo tanto, se puede inferir que una condición fisiológica particular puede conducir al desarrollo de células endocrinas de un tipo celular en el islote pancreático dependiendo de las necesidades fisiológicas del animal.

V. CONCLUSIONES

- Las células PP fueron identificadas, destacando en el cuerpo pancreático, el lóbulo derecho y alrededor de los islotes endocrinos en el páncreas de las alpacas que forman parte del presente estudio. Asimismo, se observaron islotes en los que predominan las células PP, comparable con aquellos llamados “islotes ricos en células PP” hallados en diferentes especies.
- En los primeros meses de vida de las alpacas se observaron en mayor cantidad células secretoras de somatostatina, que en animales juveniles mayores a 1 año y adultos. Estas células se ubicaron en la periferia y centro de los islotes endocrinos de alpacas menores a 2 años.

VI. LITERATURA CITADA

1. **Ali G, Masaad GAM, 2007.** A Comparative Morphological Study On The Pancreas Of The Dromedary And The Donkey. A Thesis Submitted in partial fulfillment of the Requirement for the Degree of master of Veterinary Science (M. V. SC) of the Faculty of Veterinary Medicine University of Khartoum, Sudán. 160 p.
2. **Al Ani MI, 1987.** Light microscopy of the camel (*Camelus dromedaries*) islets of Langerhans. Journal of Sugar Beet Research; 1987: 18(1): 75-80.
3. **Arteaga A, Maíz A, Olmos P, Velasco N. 1997.** Manual de Diabetes y Enfermedades Metabólicas. Dpto. Nutrición, Diabetes y Metabolismo. Escuela de Medicina. P. Universidad Católica de Chile.
4. **Baskin DG, 2015.** A historical perspective on the identification of cell types in pancreatic islets of Langerhans by staining and histochemical techniques. J Histochem Cytochem. 2015 Aug; 63(8): 543–558.
5. **Bergman R, Afifi A, Heidger P, 1989** Atlas of microscopic Anatomy: A functional approach, Section 15 Endocrine glands, W B Saunders co, 2nd. Edition, 550 p.
6. **Bloom SR, Polak JM. 1987.** Somatostatin. Br Med J. 295: 288-9.
7. **Bonner-Weir S, Like AA, 1980.** A dual population of islets of Langerhans in bovine pancreas. *Cell and Tissue Research*, 206(1), pp.157–170.
8. **Brandan N, Llanos IC, Miño CA, Ruiz D. 2006.** Hormonas Pancreáticas. Universidad Nacional del Nordeste, Facultad de Medicina - Catedra de Bioquímica, 8-10.
9. **Brazeau P, Vale W, Burgus R, Ling N, Butcher M, Rivier J, Guillemin R, 1973.** Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone. *Science* 179 77–79.

10. **Cabrera O, Berman D, Kenyan N. 2006.** The unique cytoarchitecture of human pancreatic islets has implications for islet cell function. *Proc Natl Acad Sci USA* 103:2334- 2339.
11. **Cebra CK, Bildfell RJ, Fischer KA, 2006.** Microanatomic features of pancreatic islets and immunolocalization of glucose transporters in tissues of llamas and alpacas. *American Journal of Veterinary Research*, 67(3), pp.524–528
12. **Córdoba-Chacón J, Gahete MD, Culler, Castaño K, Luque RM. 2012.** Somatostatin Dramatically Stimulates Growth Hormone Release from Primate Somatotrophs Acting at Low Doses Via Somatostatin Receptor 5 and Cyclic AMP. *Journal of Neuroendocrinology* 24, 453-463.
13. **Corleto VD. 2010.** Somatostatin and the gastrointestinal tract. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity* 17, 63-68.
14. **Chanclón B, Martínez-Fuentes AJ, Gracia-Navarro F. 2012.** Role of SST, CORT and Ghrelin and its receptors at the endocrine pancreas. *Frontiers in Endocrinology* Vol. 3 Art. 114.
15. **Chanclón B. 2013.** Papel de la somatostatina, cortistatina y ghrelina en la desregulación celular y molecular del páncreas endocrino en situaciones metabólicas normales y extremas como la obesidad y la diabetes. Tesis Doctoral del Dpto. de Biología celular, fisiología e Inmunología. Córdoba: Universidad de Córdoba. 211 p.
16. **Chávez A, Panesi G, Sato A, Santos F, Navarrete M, 2015.** Anatomía macroscópica del páncreas de la alpaca adulta (*Vicugna pacos*). Libro Virtual VII Congreso Mundial de Camélidos Sudamericanos Puno - Perú, pp. 153-156.
17. **Chuan H, Myers MA, Forbes BE, Greutzner F, 2015.** Immunohistochemical analysis of pancreatic islets of platypus (*Ornithorhynchus anatinus*) and echidna (*Tachyglossus aculeatus ssp.*), *J. Anat.* (2015) doi: 10.1111/joa.12279

18. **Elayat AA, El-Naggar MM, Tahir M, 1995.** An immunocytochemical and morphometric study of the rat pancreatic islets, *J. Anat* (1995) 186, pp. 629-637.
19. **Epelbaum J, Guillou JL, Gastambide F, Hoyer D, Duron E, Viollet C. 2009.** Somatostatin, Alzheimer's disease and cognition: An old story coming of age? *Progress in Neurobiology* 89, 153-161.
20. **Finegood D, Scaglia L, Bonner-Weir S. 1995.** Dynamics of β -cell mass in the growing rat pancreas: estimation with a simple mathematical model. *Diabetes* 44:249-256. doi: 10.2337/diab.44.3.249
21. **Forssmann A. 1976.** The ultrastructure of the cell types in the endocrine pancreas of the horse. *Cell Tiss Res*; 167:179-95.
22. **Furuoka H, Ito H, Hamada M, Suwa T, Satoh H, Itakura C. 1989.** Immunocytochemical component of endocrine cells in pancreatic islets of horses. *Jpn J Vet Sci* 51, 35–43.
23. **Gahete MD, Cordoba-Chacon J, Duran-Prado M, Malaga MAM, Martinez-Fuentes AJ, Gracia-Navarro F, Luque RM, Castaño JP. 2010.** Somatostatin and its receptors from fish to mammals. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1200:43-52.
24. **Ghezzi MD, Alzola RH, Lupidio MC, Massone A, Castro N, Rodriguez JA. 2000.** Conducto Hepatopancreático De La Llama (*Lama glama*). *Revista chilena de anatomía*, 18(1), pp.27–34. http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-98682000000100004&lng=en&nrm=iso&tlng=en [Accessed May 30, 2016].
25. **Gutierrez O, 1988.** Péptidos reguladores del sistema digestivo. *Acta Med Colomb* Vol. 13 N° 4, 1988: 254-258
26. **Hafez S, Zaghloul D, Caceci T. 2015.** Immunohistochemical identification of the endocrine cells in the pancreatic islets of the camel, horse and cattle. *Eur. J. Anat.* 19(1): 27-35.

27. **Hazelwood RL, 1989.** Embryology and anatomical organization of the vertebrate pancreas. In: The endocrine pancreas. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall Inc, 9–15.
28. **Hellerstrom C, Swenne I, Andersson A. 1988.** Islet cell replication and diabetes. In: Lefebvre PJ, Pipeleers DG (eds). The pathology of the endocrine pancreas in diabetes. Heidelberg, Germany: Springer-Verlag. 141 p.
29. **Helmstaedter V, Feurle GE, Forssmann WG, 1976.** Insulin-, glucagon- and somatostatin-immunoreactive endocrine cells in the equine pancreas. Cell and Tissue Research 172, 447–454
30. **Hiratsuka T, Abe M, Takehana K, Iwasa K, HiragaT, Kobayashi A, 1996.** Immunohistochemical analysis of the endocrine cells in the pancreatic islets of cattle. Okajimas Folia Anat Jpn; 72:285-95.
31. **Huaynates JJ, 2015.** Asociación entre el desarrollo del páncreas endocrino fetal y los niveles de glucosa séricos fetal y maternal en alpacas. Tesis para optar el título de Médico Veterinario, Facultad de Medicina Veterinaria - UNMSM. Lima- Perú, 55 p.
32. **Iñiguez L, Alem R. 1996.** Role of camelids as means of transportation and exchange in the andean region of Bolivia. World Animal Review 86: 12-21
33. **Ito S, Yamada Y, Hayashi M, Matsubara Y. 1978.** Somatostatin containing cells in the rat and horse pancreatic islets. Tohoku J exp Med 1978; 124:57-64.
34. **Khatim MS, Gumaa KA, Petersson B, Lundqvist G, Grimelius L, Hellerström , 1985.** The structure and hormone content of the endocrine pancreas of the one humped camel (*Camelus dromedarius*). Anat Anz; 159:181-6.
35. **Kim A, Miller K, Jo J, Kilimnik G, Wojcik P, Hara M. 2009.** Islet architecture: A comparative study, Islets, 1:2, 129-136
36. **Kitabchi AE, Umpierrez GE, Miles JM, Fischer JN, 2009.** Hyperglycemic crises in adult patients with diabetes. In *Diabetes Care*. pp. 1335–1343.

37. **Klaff LJ, Taborsky G., 1987.** Pancreatic somatostatin is a mediator of glucagon inhibition by hyperglycemia. *Diabetes* 36, 592-596.
38. **Krantic S, Goddard I, Saveanu A, Giannetti N, Fombonne J, Cardoso A, Jaquet P, Enjalbert A. 2004.** Novel modalities of somatostatin actions. *European Journal of Endocrinology* 151, 643-655.
39. **Larsson L, Sundler F, Hakansson R, Pollock H, Kimmel J. 1974.** Localization of APP, a postulated new hormone to a pancreatic endocrine cell type. *Histochemistry* 42: 377-82.
40. **Lis A, Barra F, Beltramino F, Peralta J, Rejf P. 2003.** Páncreas: diferencias microestructurales y de indicadores funcionales. Sitio Argentino de Producción Animal. Disponible en: http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/destete/58-pancreas.pdf
41. **Longnecker DS, 2014.** Anatomy and Histology of the Pancreas. *Pancreapedia: The Exocrine Pancreas Knowledge Base.* Disponible en <https://www.pancreapedia.org/reviews/anatomy-and-histology-of-pancreas>
42. **Luque RM, Park S, Kineman RD. 2008.** Role of endogenous somatostatin in regulating GH output under basal conditions and in response to metabolic extremes. *Molecular and Cellular Endocrinology* 286, 155-168.
43. **Mansouri SH, Gholami S, Mousavi GH, 2006.** Histomorphometrical study of pancreas in Mehraban female sheep. *Iranian Journal of Veterinary Research, University of Shiraz, Vol. 7, No. 2, Ser. No. 15.*
44. **McManus JF, Mowrry RW. 1960.** Staining methods-histologic and histochemical, New York Harper & Row Publishers.
45. **Moller LN, Stidsen CE, Hartmann B, Holst JJ. 2003.** Somatostatin receptors. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 1616, 1-84.

46. **Montanya E, Nacher V, Biarnés M, J Soler. 2000.** Linear correlation between beta-cell mass and body weight throughout the lifespan in Lewis rats: role of beta-cell hyperplasia and hypertrophy. *Diabetes* 49: 1341
47. **Muranishi T, Takehana K, Hiratsuka T, Kobayashi A, Eerdunchaolu, Iwasa K, Abe M, 1999.** An Investigation of the Relationship between Duct System and A Cell-Rich and PP Cell-Rich Pancreatic Islets in the Canine Pancreas. *J. Vet. Med. Sci.* 61(7): 737– 742
48. **Murray F, Bell D, Kelso EJ, Millar BC, McDermott BJ, 2001.** Positive and Negative Contractile Effects of somatostatin-14 on Rat Ventricular Cardiomyocytes. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 37, 324-332.
49. **Navarrete M, Sato A, 2010.** Aspectos Anatómicos de la cría de alpaca. En: Sanidad de alpacas en la etapa neonatal. Manual para estudiantes y profesionales de veterinaria. España: Complutense. p 51 – 62.
50. **Olias G, Viollet C, Kusserow H, Epelbaum J, Meyerhof W. 2004.** Regulation and function of somatostatin receptors. *Journal of Neurochemistry* 89, 1057-1091.
51. **Panesi G, 2016.** Estudio Morfológico del páncreas en Alpacas (*Vicugna pacos*) Jóvenes y adultas. Tesis para optar el título de Médico Veterinario, Facultad de Medicina Veterinaria - UNMSM. Lima- Perú, 28 p.
52. **Patel YC, 1999.** Somatostatin and its receptor family. *Front Neuroendocrinol.* 20, 157-198.
53. **Quispe EC, Rodriguez TC, Iñiguez LR, Mueller JP, 2009.** Producción de fibra de alpaca, llama, vicuña y guanaco en Sudamérica. *Animal Genetic Resources Information*, 45, p.1. Available at: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/012/i1102t/i1102t02.pdf>.
54. **Reddy S, Elliot R, 1985.** Insulin, glucagon, pancreatic polypeptide hormone and somatostatin in the goat pancreas: Demonstration by immunocytochemistry. *Aust J Biol Sci*; 38:59-66.

55. **Reddy S, Bibby NJ, Elliott RB, 1988.** An immunofluorescent study of insulin-, glucagon-, pancreatic polypeptide and somatostatin-containing cells in the early ovine fetal pancreas. *Q J Exp Physiol*; 73:225-32.
56. **Sam AH, Sleeth ML, Thomas EL, Ismail NA, Daud NM, Chambers E, Shojaee-Moradie F, Umpleby M, Goldstone AP, Le Roux CW, Bech P, Busbridge M, Laurie R, Cuthbertson DJ, Buckley A, Ghatgei MA, Bloom SR, Frost GS, Bell JD, Murphy KG, 2015.** Circulating pancreatic polypeptide concentrations predict visceral and liver fat content. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 100(3), pp.1048–1052.
57. **Slack JM, 1995.** Developmental biology of the pancreas. *Development*, 121(6), 1569-1580
58. **Steiner DJ, Kim A, Miller K, Hara M. 2010.** Pancreatic islet plasticity: Interspecies comparison of islet architecture and composition, *Islets*, 2:3, 135-145, DOI: 10.4161/isl.2.3.11815
59. **Stinson AW, Calhoun ML. 1981.** Digestive system. In: *Textbook of Veterinary Histology*. Dellmann and Brown (Eds) Second Edition. Lea and Febiger: Philadelphia, 351 p.
60. **Strowski MZ, Blake AD. 2008.** Function and expression of somatostatin receptors of the endocrine pancreas. *Molecular and Cellular Endocrinology Special Issue: Somatostatin, Cortistatin and their Receptors in Health and Disease* 286, 169-179.
61. **Vara J, 2011** Cap. 15: Cultivo de células glandulares pancreáticas. En: Guilloyzaga P, *Cultivo de Celulas animales y Humanas. Aplicaciones en Medicina Regenerativa*. Madrid: Ed. Visión Libros. p 195-201.
62. **Wang H1, Maechler P, Ritz-Laser B, Hagenfeldt KA, Ishihara H, Philippe J, Wollheim CB. 2001.** Pdx1 level defines pancreatic gene expression pattern and cell lineage differentiation. *J Biol Chem*. 2001 Jul 6; 276(27): 25279-86. Epub 2001 Apr 17.

63. **Wang X, Zielinski MC, Misawa R, Wen P, Wang TY, Wang CZ, Witkowski P, Hara M, 2013.** Quantitative Analysis of Pancreatic Polypeptide Cell Distribution in the Human Pancreas. PLoS ONE 8(1): e55501. doi:10.1371/journal.pone.0055501
64. **Yang C, David M, Wang Z, Stoll B, Lackeyram D, Kendall C. 2011.** Apical Na⁺-D-glucose cotransporter 1 (SGLT1) activity and protein abundance are expressed along the jejunal crypt-villus axis in the neonatal pig. Am J Physiol- Gastr L 300: 60-70.
65. **Xu RJ, Wang T, Zhang SH. 1999.** Functional structure and growth of the pancreas in postnatal growing animal. Biology of the Pancrease in Growing Animals, Elsevier, p. 15-26.
66. **Zghair FS, 2016.** Immunofluorescence Identification of the Endocrine Cells in the Pancreatic Islets of the Camel (*Camelus dromedarius*). Kufa Journal for Veterinary Medical Sciences Vol. (7) No. (1): 138-146

Anexo 1.- PROTOCOLO PARA TÉCNICA INMUNOHISTOQUIMICA ABC

1. Sustituto de Xilol (Neo Clear): 2 pasajes de 10 minutos cada uno
2. Etanol 100%: 2 pasajes de 10 minutos cada uno
3. Metanol 200ml mezclado con 4ml de peróxido de hidrógeno, incubados por 30 minutos, para bloquear la peroxidasa endógena
4. Etanol de 96°: 2 repeticiones de 5 minutos cada uno
5. Etanol de 70° por 5 minutos
6. Etanol de 50° por 5 minutos
7. Uso de buffer "PBS": 3 pasajes de 5 minutos cada uno
8. Recuperación antigénica con calor usando buffer citrato ph 6 sometido al calor en horno microondas de 750 watts por diez minutos. Dejar enfriar.
9. Uso de buffer "PBS": 3 pasajes de 5 minutos cada uno
10. En cámara húmeda, aplicar BSA 1% e incubar por 30 minutos, para inactivar uniones inespecíficas.
11. En cámara húmeda, aplicar el anticuerpo primario en toda la muestra. Dejar incubando por 24 horas en refrigeración (4-7°C)
12. Uso de buffer "PBS": 3 pasajes de 5 minutos cada uno
13. En cámara húmeda, aplicar el anticuerpo secundario en toda la muestra. Dejar incubando por 30 minutos a temperatura del ambiente.
14. Uso de buffer "PBS": 3 pasajes de 5 minutos cada uno
15. En cámara húmeda, aplicar el regente AB en toda la muestra. Dejar incubando por 30 minutos a temperatura del ambiente.
16. Uso de buffer "PBS": 3 pasajes de 5 minutos cada uno
17. Aplicación de DAB para el revelado. Se observa la inmunomarcación apuntando el tiempo empleado y se corta la reacción usando agua corriente.
18. Un lavado en agua corriente por cinco minutos
19. Un lavado en agua destilada por cinco minutos
20. Hematoxilina de Harris por 5 segundos.
21. Un lavado en agua corriente por cinco minutos
22. Un lavado en agua destilada por cinco minutos
23. Etanol al 50°: un pasaje de 5 minutos
24. Etanol al 70°: un pasaje de 5 minutos
25. Etanol al 96°: 2 pasajes de 5 minutos cada uno
26. Etanol 100%: 2 pasajes de 5 minutos cada uno
27. Sustituto de Xilol (Neo Clear): 2 pasajes de 5 minutos cada uno

28. Pegamento Neomont o Bálsamo de Canadá: 10 segundos y colocar portalámina, dejar secar por 48 horas.