

Estudio histológico de la glándula metatarsal modificada en la alpaca (*Vicugna pacos*)

Histological study of the modified metatarsal gland in the alpaca (*Vicugna pacos*)

Joel Iván Pacheco^{1*}, Florencia Evelin Rodríguez², Juan David Boviez³,
Juan Alberto Claver³, Daniel Marcelo Lombardo^{3,4}

RESUMEN

Se han descrito áreas alopecicas en la zona lateral y medial del metatarso de los camélidos sudamericanos, y se les ha denominado «glándulas metatarsales», análogas a las presentes en los cérvidos. En este estudio, se colectaron muestras de tejido de la región metatarsal de 8 especímenes (6 alpacas adultas y dos fetos [5 y 8 meses]) en el camal de Sicuani, Cusco (Perú), y fueron fijadas en formol tamponado al 10% y procesadas mediante la técnica histológica estándar. Seis muestras fueron teñidas con Hematoxilina-Eosina, PAS y Tricrómico de Golden Masson, y fueron evaluadas posteriormente mediante microscopía de campo claro, y dos muestras de alpacas adultas fueron procesadas mediante corte por congelación con un criostato y posterior tinción lipídica diferencial con rojo Nilo y contraste nuclear con Hoescht 33342, evaluándose mediante microscopio de fluorescencia. Se observó un tejido epidérmico alto, conformado por células principales del tipo lipoqueratinocitos, con presencia de vacuolas de contenido lipídico (rojo Nilo). La epidermis presenta proyecciones columnares que se

¹ Grupo de Investigación en Sanidad y Ganadería Altoandina-PROSAGAL, Estación IVITA Marangani, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

² Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Agrimensura, Universidad del Nordeste, Argentina

³ Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal-Catedra de Histología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires, Argentina

⁴ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina

* E-mail: jpachecoc@unmsm.edu.pe

Recibido: 10 de febrero de 2022

Aceptado para publicación: 5 de noviembre de 2022

Publicado: 22 de diciembre de 2022

©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

acercan hacia la superficie epidérmica, sirviendo de tejido de sostén y nutricio al contener capilares y presencia de fibras colágenas; la lámina basal de la epidermis presenta papilas que dan origen a dichas proyecciones. En las muestras fetales se observa la misma estructura, pero con menor altura, además de presentarse la membrana epidermal descrita en fetos de camélidos. Se concluye que estas estructuras no son compatibles con tejido glandular al no presentar acinos glandulares ni conductos secretores, determinándose como un epitelio glandular modificado con secreción de naturaleza sebácea - lipídica.

Palabras clave: glándula metatarsal, secreción sebácea-lipídica, epidermis, alpaca

ABSTRACT

Alopecic areas have been described in the lateral and medial area of the metatarsus of South American camelids, and have been called «metatarsal glands», analogous to those present in cervids. In this study, tissue samples were collected from the metatarsal region of 8 specimens (6 adult alpacas and two foetuses [5 and 8 months]) in the slaughterhouse of Sicuani, Cusco (Peru), and were fixed in 10% buffered formalin and processed by the standard histological technique. Six samples were stained with Hematoxylin-Eosin, PAS and Golden Masson's Trichrome, and were subsequently evaluated by brightfield microscopy, and two samples of adult alpacas were processed by freezing cutting with a cryostat and subsequent differential lipid staining with Nile red and nuclear contrast with Hoechst 33342 and evaluated by fluorescence microscopy. A high epidermal tissue was observed, made up of main cells of the lipokeratinocyte type, with the presence of vacuoles with lipid content (Nile red). The epidermis presents columnar projections that approach the epidermal surface, serving as supportive and nutritious tissue as it contains capillaries and collagen fibres; the basal lamina of the epidermis has papillae that give rise to these projections. In the foetal samples the same structure is observed, but with less height, in addition to presenting the epidermal membrane described in camelid foetuses. It is concluded that these structures are not compatible with glandular tissue as they do not present glandular acini or secretory ducts, being determined as a modified glandular epithelium with sebaceous-lipid secretion.

Key words: metatarsal gland, dermis, epidermis, alpaca

INTRODUCCIÓN

La piel de los mamíferos cuenta con una gran cantidad y diversidad de glándulas, la mayoría de ellas especializadas en producir olores específicos. Estas glándulas se pueden localizar en diferentes partes del cuerpo y la ubicación está en relación con su función. Entre estas se encuentran las glándulas sudoríparas apocrinas y las sebáceas holocrinas, siendo estas últimas las más comunes en cuanto a producción de olores (Myky-

towycz, 1972; Quay, 1986). En especies como los cérvidos, las glándulas productoras de olores, en especial las metatarsales, son muy importantes pues permiten la comunicación entre los individuos (Ajmat *et al.*, 2004; Wood, 2003), siendo la composición de las secreciones mayormente de ácidos grasos volátiles.

En los camélidos del viejo mundo se ha determinado la presencia de varias glándulas productoras de olores; entre ellas, la más importante es la glándula del testuz, ubicada

detrás de las orejas, la cual produce una secreción oscura y oleosa, especialmente en época reproductiva, glándula túbulo-alveolar y cuyos acinos muestran gránulos PAS positivos (Ebada *et al.*, 2012). Por otro lado, las glándulas sebáceas verdaderas en el camello son similar a las de otras especies como la vaca y la oveja, presentando lobulaciones y tres tipos predominantes de células: periféricas, maduras y necróticas (Taha, 1988).

En la llama (*Lama glama*) se observan áreas desprovistas de pelo a ambos lados de la región metatarsal, tejido compatible con una glándula odorífera, identificada histológicamente como una glándula sudorípara modificada, muy similar en su estructura a las almohadillas plantares, e incluso se indica que podría ser el vestigio de un dedo (Atlee *et al.*, 1997). No obstante, esto ha sido objetado por Chamut *et al.* (2016), quienes describen estas glándulas presentes en la vicuña (*Vicugna vicugna*) como un epitelio secretor, formado por glándulas tubulares simples que desembocan en un estrato córneo con aspecto de panal de abejas, mostrando una evidente naturaleza secretoria, y cuya función posiblemente sea la producción de feromonas que permitan la identificación individual. En la alpaca (*Vicugna pacos*) se ha descrito la ubicación anatómica y las dimensiones, existiendo diferencias entre sexo, edad y ubicación (medial y lateral), e histológicamente se le describe como una glándula sebácea tubular (Herrera, 2001; Lizares, 2017). Ante la escasa y confusa información respecto a esta estructura y su función en camélidos sudamericanos, es que se planteó esta investigación con el objetivo de realizar una descripción histológica, morfométrica e histoquímica de las glándulas metatarsales de la alpaca.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se colectaron muestras de tejido de la región metatarsal, medial y lateral de 8 especímenes, entre estos, 6 alpacas adultas

(3 machos y 3 hembras) y dos fetos (de 5 y 8 meses) provenientes de individuos faenados en el camal de San Felipe, distrito de Sicuani, Región Cusco, Perú. Todas las muestras fueron identificadas y fijadas en solución de formaldehído tamponado al 10%, y trasladadas al Área de Histología y Embriología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Las muestras de 4 adultos y 2 fetos fueron sometidas a la técnica histológica estándar para la coloración con Hematoxilina-Eosina (HE), además de realizar técnicas histoquímicas como PAS, Tricrómico de Golden Masson y rojo Nilo. Las otras dos muestras de adultos (hembra y macho) se sometieron a cortes por congelación mediante un criostato y coloreados con rojo Nilo y contraste nuclear con Hoescht 33342. Las imágenes fueron analizadas bajo microscopía de campo claro y de fluorescencia utilizando un microscopio DM4000B Leica y cámara digital DC380X para la captura de imágenes.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados indican que este tejido no es compatible con un tejido glandular típico, pues no presenta acinos glandulares ni conductos excretores, no pudiendo, por lo tanto, denominarla como «glándula metatarsal». Esta es una estructura muy disímil a lo descrito anteriormente por Herrera (2001), Lizares (2017) y Chamut *et al.* (2016), quienes la describen como glándula, y porque no presenta características de glándula sebácea como lo observado por Taha (1988).

En cortes histológicos de feto de 5 meses de edad gestacional (Figura 1a), se puede observar la hipodermis con presencia de fibras colágenas y musculares ordenadas longitudinalmente. Sobre esa capa se aprecian formaciones columnares de células dérmicas, organizadas a manera de papilas dérmicas, a partir de las cuales se forman estructuras que se entrelazan con el tejido

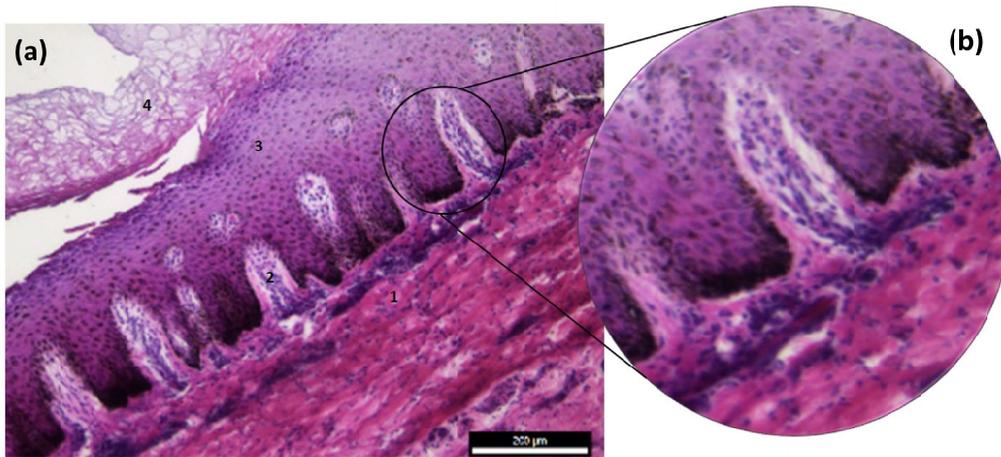


Figura 1. (a) Microfotografía de tejido metatarsal en feto de 5 meses. Hipodermis (1), dermis (2), epidermis (3), membrana epidermal (4). 40X. tinción HE. (b) Detalle de las papilas dérmicas, HE.

epidérmico (Figura 1b). Este último presenta varios tipos de células en varios estratos a medida que se acerca hacia la superficie externa. A este nivel se observa una clara separación con otro tipo de tejido, el cual se trataría de la membrana epidermal (Figura 1a), habiendo sido descrita en los camélidos como una membrana fetal adicional, con posibles funciones de protección del feto, aislamiento del líquido amniótico y lubricación durante el proceso del parto (Musa, 1977).

En feto de 8 meses de edad gestacional (Figura 2a) se pueden observar las mismas estructuras, pero mucho más ordenadas. Es evidente la diferencia de la epidermis con la membrana epidermal, descrita previamente por Iturrizaga *et al.* (2007). No se observa tejido glandular ni conductos secretores. El tejido de la estructura metatarsal está conformado por las prolongaciones dérmicas (Figura 2b) y el tejido epidérmico a manera de crestas epidérmicas, similar a lo descrito por Atlee *et al.* (1997) en la almohadilla plantar, aunque mucho más delgado.

En las muestras de alpacas adultas se observó tejido epidérmico alto con prolongaciones dérmicas profundas que servirían de

tejido de sustento y de nutrición para la epidermis (Figura 3a), sin diferencia entre sexos. Las células epidérmicas principales son de aspecto globular, con núcleos excéntricos y evidente presencia de vacuolas, siendo descritas como del tipo lipoqueratinocitos (Figura 3b). En la zona apical (Figura 3c) se observa un estrato granuloso y una clara separación con la capa córnicada en la cual pueden verse células muertas sin presencia de citoplasma, con un aspecto de panal de abejas. Esta descripción coincide con la de una epidermis modificada de apariencia sebácea, descartando una descripción glandular típica al no encontrar tejido glandular ni tampoco conductos excretores. Estos hallazgos difieren de lo descrito por Chamut *et al.* (2016) quienes la describen como una glándula tubular, y también diferente a las glándulas sebáceas verdaderas descritas en camélidos sudamericanos (Lacolla *et al.*, 2010) y del viejo mundo (Ebada *et al.*, 2012).

Luego de realizar cortes transversales en la región media del órgano metatarsal, se pudo observar una disposición bastante homogénea entre ambos tipos de tejido. Las proyecciones dérmicas se encuentran bien definidas, observándose claramente la lámi-

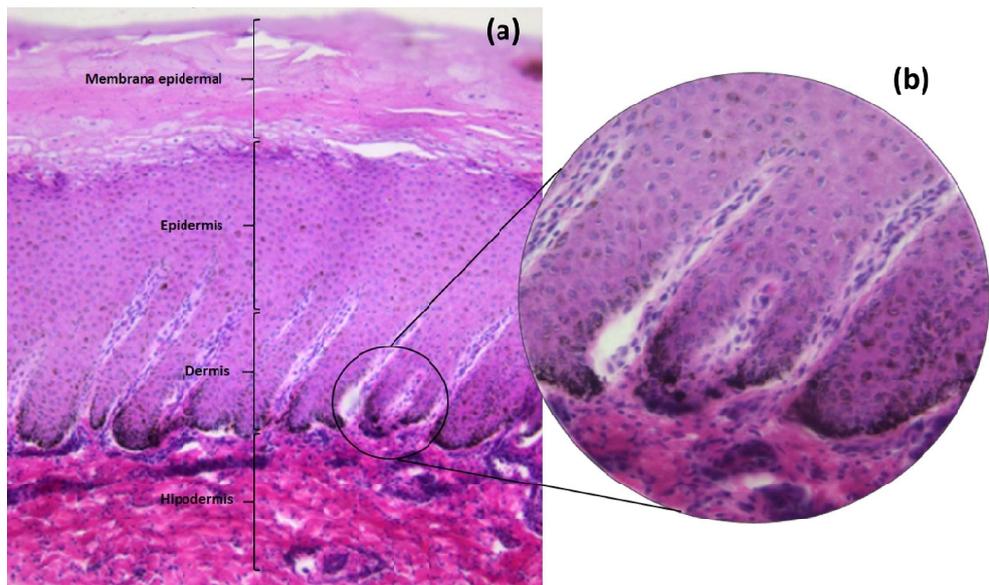


Figura 2. (a) Microfotografía de tejido metatarsal en feto de 8 meses. 20X. Tinción HE. (b) Detalle de las papilas epidermicas y las columnas dermicas, HE

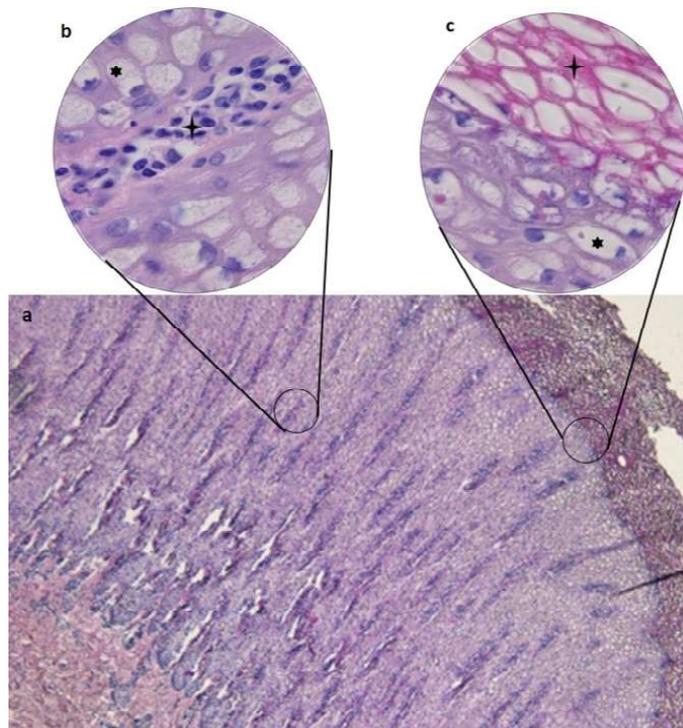


Figura 3. (a) Vista panorámica del órgano metatarsal en una alpaca adulta. 5X. Tinción HE. (b) Corte longitudinal de la región media del órgano metatarsal, células epidérmicas principales (lipoqueratinocitos*) y proyección dérmica (estrella). 20X, Tinción HE. (c) Corte longitudinal de la zona apical del órgano metatarsal, células epidérmicas principales (*), estrato necrótico en descamación (estrella). 20X, Tinción HE

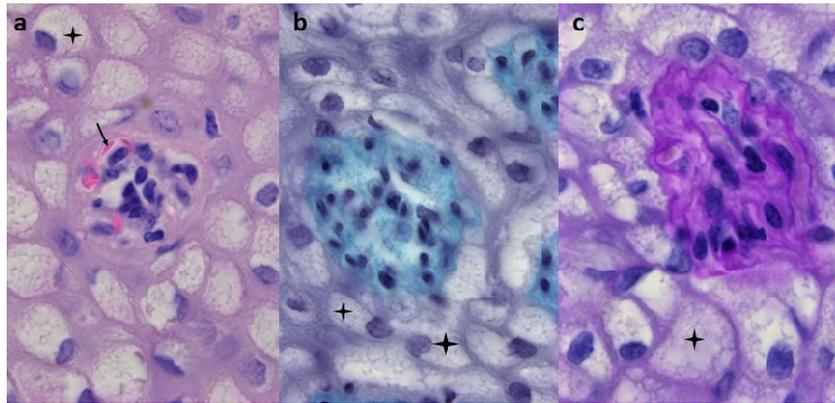


Figura 4. Corte transversal de la zona media del órgano metatarsal en una alpaca adulta. Obsérvese las proyecciones dérmicas a manera de columnas, con presencias de capilares (flechas) y las células epidérmicas principales con núcleos excéntricos (estrellas). 20X. (a) Tinción HE, (b) Tinción Tricrómica de Goldner Masson, (c) Tinción PAS

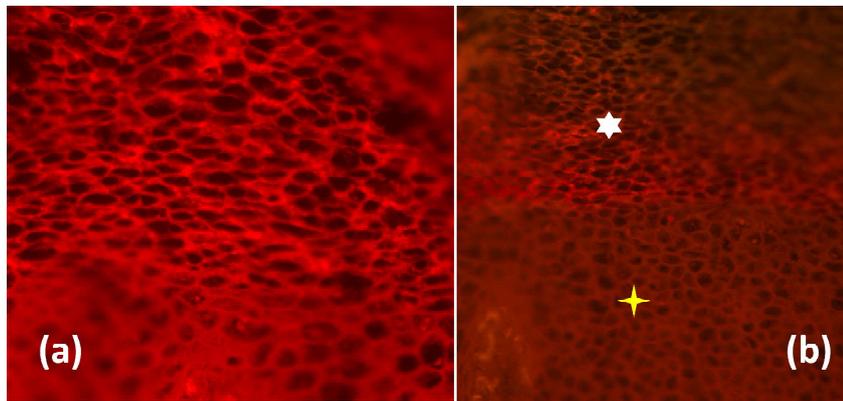


Figura 5. (a) Zona apical en descamación, nótese la presencia de grasa en las membranas de las células principales de la epidermis bajo microscopía óptica. (b) Límite de la zona apical epidérmica (estrella blanca) y la zona cornificada en descamación (estrella amarilla). Tinción Rojo Nilo. 10X

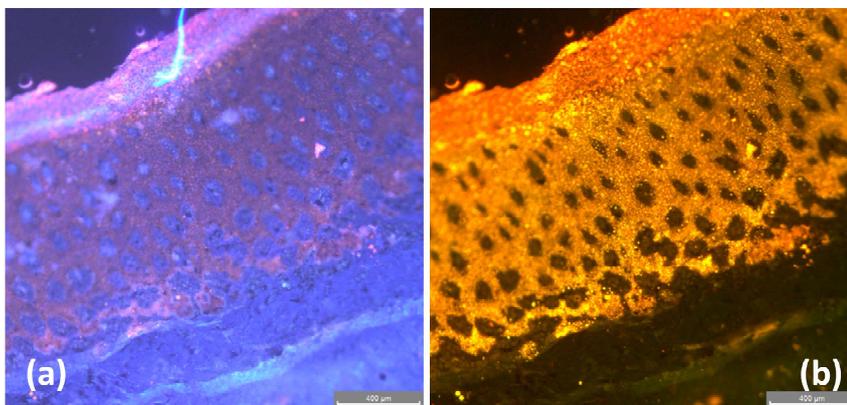


Figura 6. Microfotografías de fluorescencia: (a) Tinción Hoescht 33342. Nótese los núcleos de color azul brillante en las proyecciones dérmicas. (b) Tinción de Rojo Nilo. Gránulos lipídicos almacenados en las células principales de la epidermis en color amarillo. 5X

na basal de estas células, demarcadas por la coloración PAS+ (Figura 4c) (Serviansky *et al.*, 2013). Así mismo, se pudo observar en este mismo tejido dérmico la presencia de fibras colágenas propias de tejido conectivo, mediante el Tricrómico de Golden Masson (Figura 4b). En las proyecciones dérmicas a manera de columnas se observa la presencia de capilares (Figura 4a), reforzando la teoría de la función nutritiva de este tejido, puesto que, al ser la capa epidérmica muy alta, no podría nutrirse correctamente sin la existencia de irrigación sanguínea. En las tres coloraciones (Figura 4a,b,c) se puede observar que las células epidérmicas principales tienen forma globular, con evidente presencia de vacuolas y núcleos en posición excéntrica, las mismas que incrementan gradualmente su tamaño a medida que se acercan a la zona apical (Gartner y Hiatt, 2008; Salazar y Moreno, 2016).

Las técnicas histológicas utilizan solventes orgánicos con el objetivo de eliminar sustancias de naturaleza lipídica para poder reemplazarla con parafina y así realizar el micro corte; sin embargo, no todos los lípidos son eliminados, quedando encapsulados gran parte entre las membranas celulares (Gartner y Hiatt, 2008). La técnica de tinción histoquímica diferencial usando rojo Nilo bajo microscopía de fluorescencia permite colorear el contenido lipídico en los tejidos y en cortes hechos bajo técnica histológica estándar (Fowler y Greenspan, 1985). En el presente estudio se pudo evidenciar la presencia de contenido lipídico en los espacios intercelulares de la capa cornificada (Figura 5a), en la cual, posiblemente, a medida que se descama, se rompen las células y liberan su contenido hacia el exterior, siendo compatibles con células de tipo holocrinas. También se observó en el citoplasma de las células epidérmicas principales (Figura 5b, estrellas).

Para corroborar la naturaleza lipídica del contenido de estas células, se realizaron cortes histológicos en muestras de dos individuos adultos, sin incluir el uso de solventes orgánicos en el procedimiento para evitar la pérdi-

da lipídica, realizando el corte por congelamiento mediante un criostato. Estas muestras fueron teñidas con una tinción doble, utilizando rojo Nilo y contraste nuclear con Hoescht 33342. De esta forma se pudo determinar la presencia de una mayor cantidad de núcleos celulares en las proyecciones dérmicas (Figura 6a), mientras que el rojo Nilo demostró la presencia de depósitos lipídicos en las células epidérmicas principales o lipoqueratinocitos (Figura 6b).

CONCLUSIONES

- El órgano metatarsal de la alpaca no presenta una estructura histológica compatible con tejido glandular típico; sin embargo, existe evidencia de una función secretoria de naturaleza lipídica, ante lo cual se propone el nombre de «glándula metatarsal modificada».
- Existe una marcada diferencia histológica y funcional entre el tejido dérmico y epidérmico del órgano metatarsal de la alpaca.
- Se demostró la presencia de una gran reserva lipídica en las células epidérmicas principales, denominadas «lipoqueratinocitos», lo que podría estar relacionado a una probable función secretoria especializada.

Agradecimientos

Este estudio se ejecutó gracias a la Beca Iberoamericana - Jóvenes profesores e Investigadores, Banco Santander-2018 y fondos de la Programación Científica UBACyT 2018-2021 Cod - 20020170100610BA

LITERATURA CITADA

1. *Ajmat MT, Chamut S, Black-Décima P. 2004.* A histological study of cutaneous glands in the brown brocket deer. *Acta Theriol* 49: 93-102. doi:10.1007/bf03192511

2. **Atlee BA, Stannard A, Fowler M, Willemse T, Ihrke PJ, Olivry T. 1997.** The histology of normal llama skin. *Vet Dermatol* 8: 165-176. doi: 10.1046/j.1365-3164.1997.d01-13.x
3. **Chamut S, Cancino AK, Black-Decima P. 2016.** The morphological basis of vicugna wool: skin and glandule structure in *Vicugna vicugna* (Molina 1782). *Small Ruminant Res* 137: 124-129. doi: 10.1016/j.smallrumres.2016.-03.010
4. **Ebada S, Helal A, Alkafafy M. 2012.** Immunohistochemical studies on the poll gland of the dromedary camel (*Camelus dromedarius*) during the rutting season. *Acta Histochem* 114: 363-369.
5. **Fowler S, Greenspan P. 1985.** Application of Nile red, a fluorescent hydrophobic probe, for the detection of neutral lipid deposits in tissue sections: comparison with oil red O. *Histochem Cytochem* 33: 833-836. doi: 10.1177/33.8.4020099
6. **Gartner LP, Hiatt JL. 2008.** Texto atlas de histología. 3ª ed. México: McGraw-Hill. 574 p.
7. **Herrera J. 2001.** Estudio histológico de la glándula metatarsal de vicuña (*Vicugna vicugna*). Tesis de Médico Veterinario y Zootecnista. Puno, Perú: Univ. Nacional del Altiplano. 47 p.
8. **Iturrizaga DM, Veracchia Y, Santos TC, Bombonato PP, Teixeira TG, Miglino MA. 2007.** The materno-fetal interface in llama (*Lama guanicoe glama*). *Pesqui Vet Brasil* 27: 221-228. doi: 10.1590/S0100-736X2007000600001
9. **Lacolla D, García M, Corredera C, Buey V. 2010.** Estructura histológica de la piel de los camélidos sudamericanos. *Ciencia Veterinaria* 12: 8-15.
10. **Lizares CV. 2017.** Estudio morfométrico e histológico de las glándulas metatarsales de la alpaca. Tesis de Médico Veterinario y Zootecnista. Puno, Perú: Univ. Nacional del Altiplano. 41 p.
11. **Musa BE. 1977.** A new epidermal membrane associated with the foetus of the camel (*Camelus dromedarius*). *Anat Histol Embryol* 6: 355-358. doi: 10.1111/j.1439-0264.1977.tb00447.x
12. **Myktyowycz R. 1972.** The behavioural role of the mammalian skin glands. *Naturwissenschaften* 54: 133-139.
13. **Quay WB. 1986.** Scent glands. In: *Biology of the integument*. Springer. p 357-373. doi:10.1007/978-3-662-00989-5_20
14. **Salazar M, Moreno F. 2016.** Comparación de tres tipos de técnicas histoquímicas en secciones histológicas de paladar y lengua de rata Wistar. *Salutem Scientia Spiritus* 2: 12-23.
15. **Serviansky TH, Kresch NS, Moreno G, Arenas R, Vega ME. 2013.** Utilidad de la tinción PAS para el diagnóstico histopatológico. *Dermatología CMQ* 11: 13-18.
16. **Taha AAM. 1988.** Ultraestructure of the sebaceous glands of the camel (*Camelus dromedarius*). *J Anat* 156: 157-168.
17. **Wood W. 2003.** Volatile components in metatarsal glands of sika deer, *Cervus nippon*. *J Chem Ecol* 29: 2729-2733. doi: 10.1023/b:joec.0000008016.44795.8a