

ESTUDO AO MICROSCÓPIO ELEC-  
TRÓNICO DAS CÉLULAS BETA DO  
PÂNCREAS ENDÓCRINO DO RATO



G A Z E T A M É D I C A P O R T U G U E S A

SEPARATA DO VOLUME XI • JANEIRO-FEVEREIRO DE 1958 • N.º 1

INSTITUTO DE HISTOLOGIA E EMBRIOLOGIA DA FACULDADE DE MEDICINA DE LISBOA

(DIRECTOR: PROF. XAVIER MORATO)

# ESTUDO AO MICROSCÓPIO ELECTRÓNICO DAS CÉLULAS BETA DO PÂNCREAS ENDÓCRINO DO RATO

por

DAVID FERREIRA

Assistente do Instituto de Histologia e Embriologia

da Faculdade de Medicina de Lisboa

Bolseiro do Instituto de Alta Cultura

## SUMÁRIO

- 1 — INTRODUÇÃO
- 2 — MATERIAL E MÉTODOS
- 3 — OBSERVAÇÕES
  - a) A ultra-estrutura da célula  $\beta$ .
  - b) Relações entre o aparelho de Golgi e as granulações.
  - c) Relações entre as células  $\beta$  e os capilares.
- 4 — DISCUSSÃO
  - a) Gênese das granulações.
  - b) Relações entre as células e capilares.
- 5 — RESUMO

### I — INTRODUÇÃO

Quando, em 1869, LANGERHANS descobriu no pâncreas os ilhéus celulares que têm o seu nome, abriu aos estudos biológicos um campo cuja importância se veio a concretizar cinquenta anos mais tarde, com a descoberta da insulina.

Os trabalhos realizados no espaço de tempo decorrido entre estas duas descobertas e os estudos posteriores, em que assentam os nossos conhecimentos sobre a fisiologia do pâncreas endócrino e a fisiopatologia da diabetes, demonstram bem quanto a fecundidade de uma descoberta pode ultrapassar os cálculos de uma época. Mas ainda que tenha sido LANGERHANS quem pela primeira vez assinalou a existência dos grupos celulares que mais tarde se reconheceram como responsáveis pela secreção endócrina do pâncreas, foram LAGUESSE<sup>16, 17</sup> e TSCHASSOWNIKOW<sup>21</sup> que lançaram as bases dos estudos citológicos dos ilhéus, ao descreverem nestas células as granulações características. Outro passo im-

portante foi dado por LANE<sup>18</sup> que identificou nos ilhéus dois tipos celulares distintos, as células  $\alpha$  cujas granulações se mantêm depois do emprego de fixadores alcoólicos, e as células  $\beta$  cujas granulações desaparecem depois do emprego desses fixadores, mas que se mantêm quando se utilizam fixadores em solução aquosa.

A descoberta de LANE foi confirmada por BENSLEY<sup>1</sup> que introduziu métodos de coloração que permitem identificar os diferentes tipos celulares dos ilhéus.

A utilização dos métodos descobertos no estudo dos ilhéus das mais variadas espécies, a introdução de novos métodos de coloração, entre os quais ocupa um lugar especial o método de GOMORI<sup>11, 12</sup>, permitiram não só a identificação de outros tipos celulares, mas ainda esclareceram alguns problemas de histogênese e de histofisiologia.

No rato adulto os ilhéus de LANGERHANS são constituídos por três tipos de células: células  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\delta$ . Destes três tipos celulares de relações e gênese ainda discutidas, as células  $\beta$  ocupam um lugar muito particular, dado o papel importante que segundo argumentos de vária ordem devem ocupar na formação da insulina.

Nas breves referências de DALTON<sup>8</sup> e de ROBERTSON<sup>29</sup> sobre a ultra-estrutura das células dos ilhéus do pâncreas de ratinho, estes autores assinalam a existência de um único tipo celular.

Poderia concluir-se que os tipos de células descritos em microscopia óptica, após o emprego de um certo número de colorações, não têm sig-



nificado ao microscópio electrónico e são o resultado de diferenças histoquímicas assinaladas por essas colorações.

Dado, porém, que nos seus trabalhos os autores acima citados fazem referência unicamente a título de passagem à ultra-estrutura das células do pâncreas endócrino, tendo em conta certas razões de ordem técnica, como a pequena frequência com que habitualmente são observadas ao microscópio electrónico nos cortes de pâncreas secções da porção endócrina, e ainda porque o emprego dos cortes ultrafinos limita o campo da nossa observação, somos levados à convicção que se torna necessário o estudo do problema, com técnicas que evitem as deficiências das técnicas empregadas.

Sabe-se depois dos trabalhos de HARD <sup>15</sup> confirmados por NERENBERG <sup>24</sup>, que no pâncreas do rato as células  $\beta$  são as primeiras a diferenciar-se (18.º dia da vida intra-uterina), e que os ilhéus são constituídos unicamente por este tipo celular até ao segundo dia depois do nascimento. Dado que o número de ilhéus observados nos cortes durante este estado do desenvolvimento é maior, este material permite analisar um grande número de ilhéus, cuja constituição uniforme torna fácil a identificação dum dos tipos celulares descritos pela microscopia óptica. A descrição aqui apresentada corresponde pois à das células  $\beta$ , cujas granulações são descritas como percursoras da insulina.

## 2 — MATERIAL E MÉTODOS

As observações apresentadas neste trabalho são o resultado do exame de cortes ultrafinos de pâncreas de embriões de rato (18 a 20 dias de gestação) e de ratos recém-nascidos (1 a 2 dias).

Os embriões foram colhidos de fêmeas ligeiramente anestesiadas com éter. Imediatamente após a colheita a cavidade abdominal dos embriões foi aberta, colocando-se sobre o pâncreas algumas gotas de ácido ósmico. Seguidamente isola-se o órgão e sobre uma gota de ácido ósmico divide-se em fragmentos de 1 mm de lado, com a ajuda de uma lâmina de aço bem afiada. Os recém-nascidos foram decapitados e sofreram

posteriormente o mesmo tratamento. Os tecidos foram fixados (à temperatura de  $-3^{\circ}$  C.) em ácido ósmico a 10 %, tamponado a pH 7,3 segundo a técnica de PALADE.

A desidratação foi feita no aparelho de BERNHARD <sup>4</sup>.

Os fragmentos foram incluídos em metacrilato de n-butilo e os blocos cortados no ultramicrotomo de PORTER-BLUM.

As observações e fotografias foram feitas com o microscópio RCA EMU 2 E.

## 3 — OBSERVAÇÕES

### a) A ultra-estrutura da célula $\beta$

A observação a uma fraca ampliação mostra que para uma certa incidência de corte as células do pâncreas endócrino apresentam uma região basilar, em geral ocupada pelo núcleo, e uma zona apical (pólo vascular) em relação com um capilar (fig 1).

No citoplasma além dos elementos comuns a outros tipos celulares, condrioma, aparelho de Golgi e ergastoplasma, observam-se as granulações cujo contraste, resultante da sua forte osmiofilia, as torna muito aparentes (figs. 2 e 3).

O núcleo de aspecto granuloso é revestido por uma dupla membrana em que se podem ver os poros assinalados por vários autores noutros tipos celulares. A observação dum nucléolo, pequeno em relação ao volume total do núcleo, não é rara. Apresenta geralmente a estrutura filamentosa ou reticulada descrita noutras células animais por BERNHARD e colab. <sup>2, 3</sup>.

O condrioma cuja morfologia geral corresponde às descrições de PALADE <sup>26</sup> é constituído por mitocôndrias ovais ou alongadas, aspecto resultante da orientação variável do plano de corte.

O ergastoplasma é formado por vesículas de superfície exterior revestida por partículas densas (grãos de PALADE), que se encontram isoladas ou em grupos, dispersas pelo citoplasma.

O aparelho de Golgi destas células é muito desenvolvido e tem geralmente uma ultra-estrutura complexa.



Segundo as descrições de DALTON e FELIX<sup>7, 8</sup>, SJÖSTRAND e HANZON<sup>30</sup>, HAGUENAU e BERNHARD<sup>14</sup>, este organito celular é essencialmente formado por três estruturas fundamentais:

1 — Grandes vacúolos, que podem tomar o aspecto de canais sinuosos, limitados por uma membrana desprovida de grânulos;

2 — Microvesículas ou grânulos limitados por uma membrana nítida e de conteúdo denso. São sobretudo numerosos à periferia dos grandes vacúolos;

3 — Membranas, algumas vezes aos pares, limitando cada par um espaço ocupado por uma substância mais opaca.

O conjunto destas formações de combinação polimorfa, encontra-se no seio de uma substância fundamental, que em certos pontos é percorrida por fibrilhas muito finas (30 Å) que se entrecruzam (figs. 4 e 5).

As granulações  $\beta$  são mais numerosas na zona do citoplasma compreendida entre o aparelho de Golgi e o pólo vascular. São esféricas ou ligeiramente ovulares. Possuem um núcleo central fortemente osmiófilo, separado do citoplasma por uma zona menos densa. Na maior parte das granulações o núcleo osmiófilo é homogêneo, mas nalgumas apresenta zonas mais osmiófilas do que noutras.

Os seus diâmetros foram medidos separadamente, nos dois grupos de animais estudados (embriões e recém-nascidos). A diferença das duas médias não sendo significativa, tomou-se o conjunto das medidas como amostra duma só população. Obteve-se como diâmetro um valor médio de 147 m $\mu$ , com uma precisão estatística de  $\pm 3\%$ , erro duplo do erro *standard*.

#### b) Relações entre o aparelho de Golgi e as granulações $\beta$

As microvesículas e os grânulos do aparelho de Golgi não são homogêneos. As suas diferenças de tamanho e de constituição contribuem muito para o polimorfismo deste organito celular.

Além das vesículas de parede simples, as mais frequentes, observam-se outras de dimen-

sões maiores, de parede dupla, e cujo interior é mais denso. Podem também observar-se mais raramente grânulos cuja parte central é muito osmiófila.

Entre as microvesículas e grânulos do aparelho de Golgi e as granulações  $\beta$  observam-se todos os aspectos intermediários, numa sucessão de imagens que sugerem a formação das granulações a partir dos elementos do aparelho de Golgi (figs. 3, 4 e 5).

Estas observações concordam com as feitas por outros autores, noutros tipos celulares. SJÖSTRAND e HANZON<sup>30</sup> descreveram aspectos semelhantes no pâncreas exócrino do ratinho. HAGUENAU e BERNHARD<sup>14</sup> admitem igualmente a participação provável do aparelho de Golgi na elaboração das granulações das células do lobo anterior da hipófise.

#### c) Relações entre as células $\beta$ e os capilares

Num artigo sobre a vascularização do lobo anterior da hipófise, RINEHART e FARQUHAR<sup>28</sup> afirmam que o exame ao microscópio electrónico dos cortes ultrafinos oferece: «The first op-

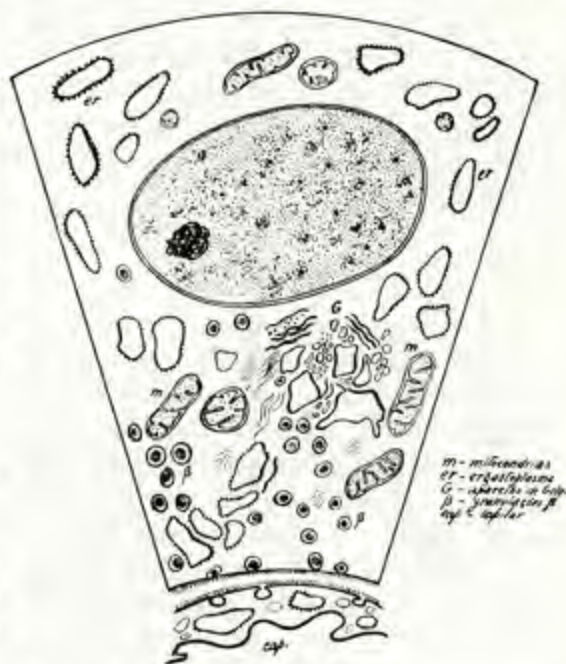


Fig. 1 — Esquema de uma célula  $\beta$  do pâncreas embrionário de rato vista ao microscópio electrónico



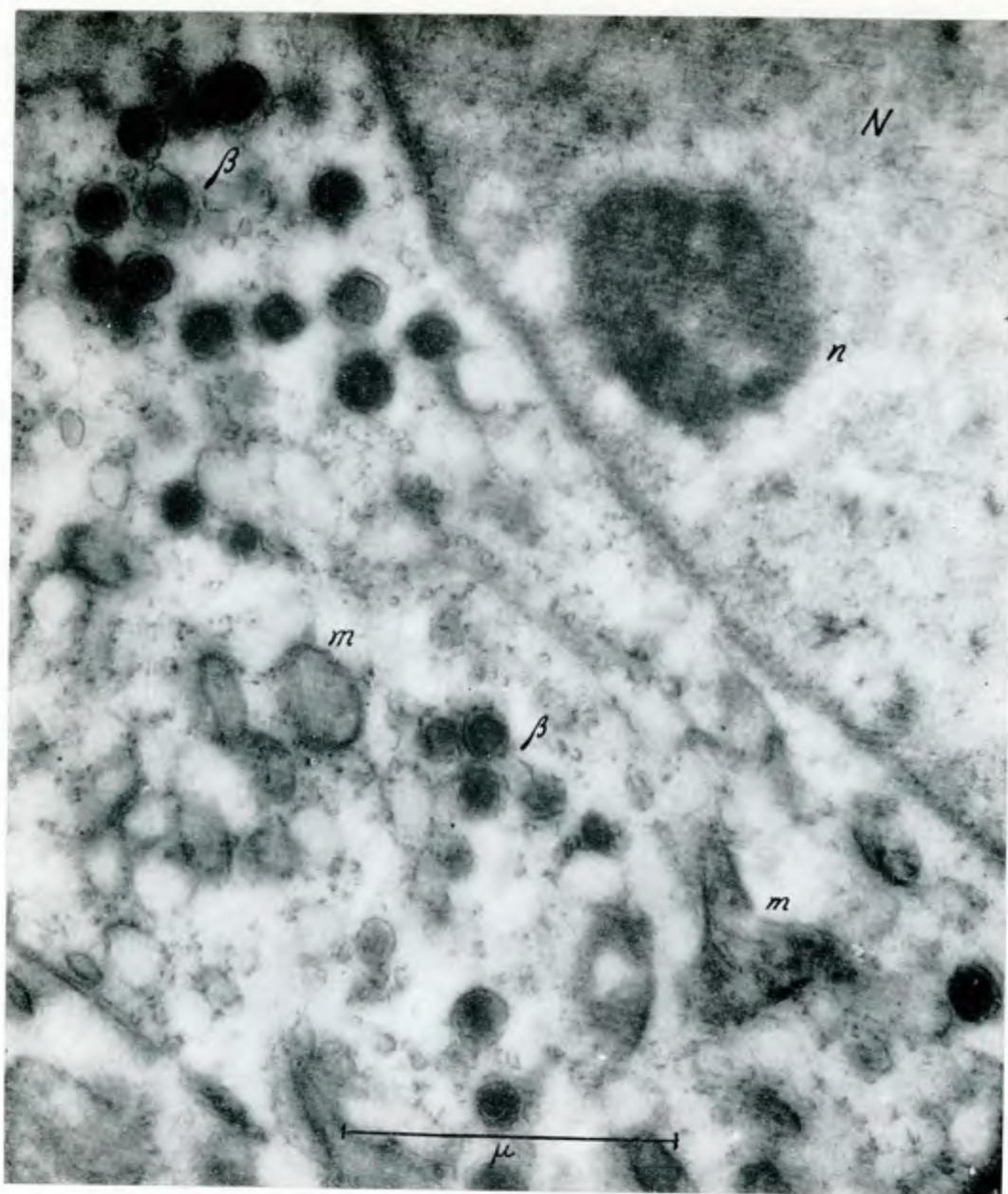


Fig. 2 — Pâncreas endócrino de rato. Célula  $\beta$ . N — núcleo; n — nucléolo; m — mitocôndria;  $\beta$  — granulação. Ampliação 46.000X

portunity for the study of the particularly delicate structure of capillary endothelium». No caso particular dos órgãos endócrinos, este estudo adquire uma importância especial, pela contribuição que pode trazer ao conhecimento de certos aspectos funcionais.

As células endoteliais que formam a parede dos capilares do pâncreas endócrino têm, com excepção do aparelho de Golgi, todos os organelos geralmente observados nas outras células.

O contorno do seu lúmen é geralmente sinuoso e muitas das sinuosidades penetram pro-

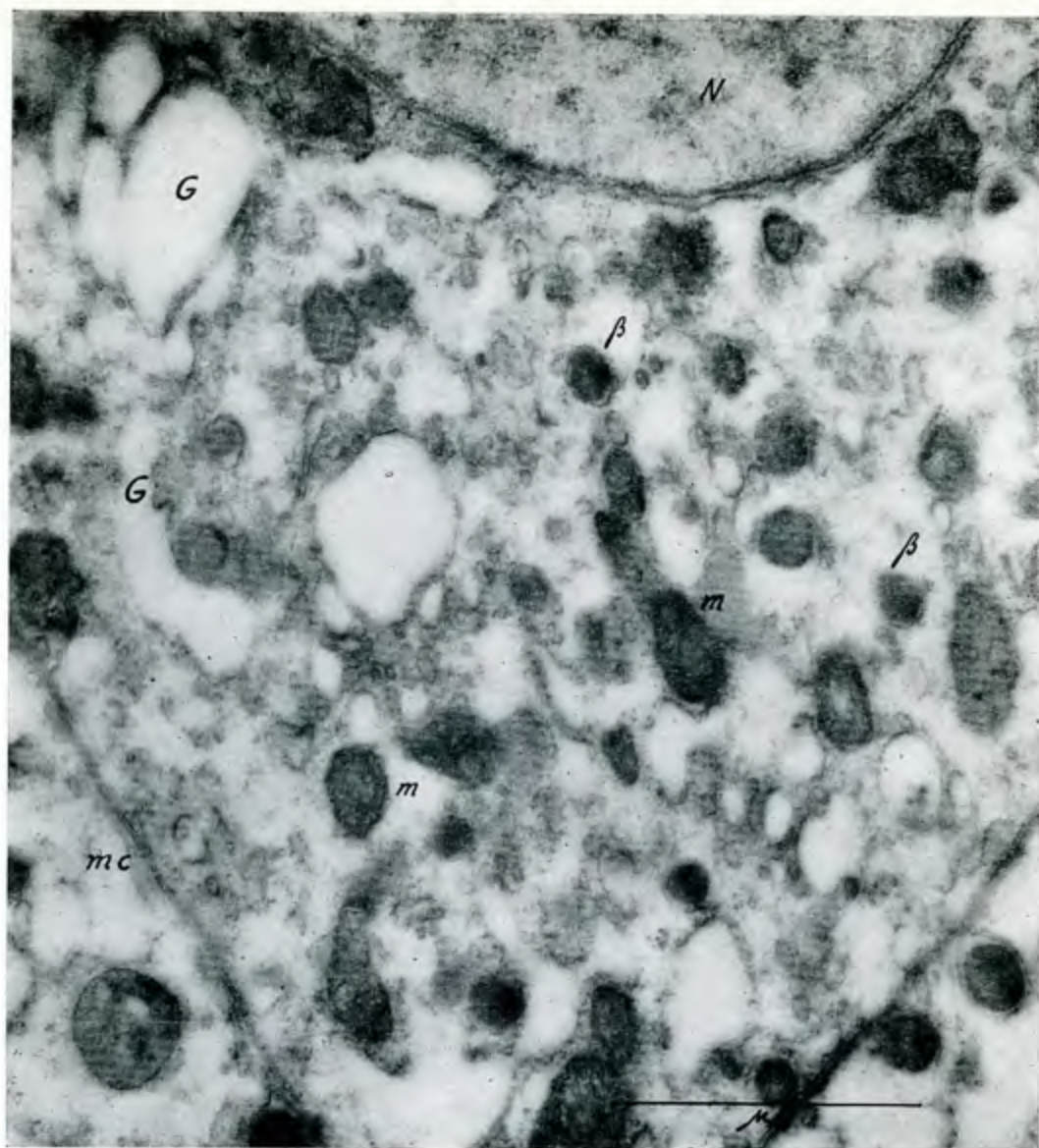


Fig. 3 — Pâncreas endócrino de rato. Célula  $\beta$ . N — núcleo; G — aparelho de Golgi; m — mitocôndrias;  $\beta$  — granulações; mc — membrana celular. Ampliação 41.000 X

fundamente no citoplasma da célula endotelial.

Nalguns pontos as anfractuosidades do lúmen dos capilares continuam-se com os vacúolos e canículos do seu citoplasma (fig. 7).

Na superfície externa do capilar, a membrana celular apresenta um contorno mais regular. Este contorno é interrompido, nalguns pontos, por poros cujo diâmetro é aproximadamente de 300 Å (fig. 7).

O exame de alguns cortes leva a admitir que os poros põem em comunicação a superfície exterior do capilar e as vesículas e canais das células endoteliais.

Os capilares e as células do parênquima endócrino estão separados por um espaço — espaço pericapilar ou subendotelial (fig. 7). Este espaço tem sido interpretado de forma diferente pelos autores que o têm estudado noutros órgãos,





Fig. 4 — Pâncreas endócrino de rato. Aparelho de Golgi de uma célula  $\beta$ . G — aparelho de Golgi; m — mitocôndrias;  $\beta$  — granulações;  $\downarrow$  — granulações de transição. Ampliação 60.000 $\times$

membrana basilar para uns, produto de secreção para outros.

As membranas das granulações  $\beta$ , que ocupam a zona da célula em relação com o espaço pericapilar, podem ter uma ligação muito íntima com a membrana celular (fig. 7).

A membrana da célula endotelial, assim como a da célula endócrina em relação com a parede do capilar, são revestidas por uma camada menos densa, amorfa e de limites mal precisos.

#### 4 — DISCUSSÃO

A observação de cortes de pâncreas de embriões (18.º dia) e de ratos recém-nascidos (1 a 2 dias), em que os ilhéus de LANGERHANS são

unicamente constituídos por células  $\beta$ , permitiram-nos a identificação e o estudo da ultra-estrutura destas células. A comparação, entre as células descritas neste trabalho e as células do tecido endócrino adulto, poderá esclarecer se no plano da ultra-estrutura os ilhéus têm uma constituição celular uniforme. Outro método será o emprego de técnicas histofisiológicas. A destruição específica das células  $\beta$  pela aloxana poderá contribuir para a solução do problema.

Neste trabalho duas questões ocuparam particularmente a nossa atenção: a gênese das granulações específicas e as relações entre as células e os capilares.



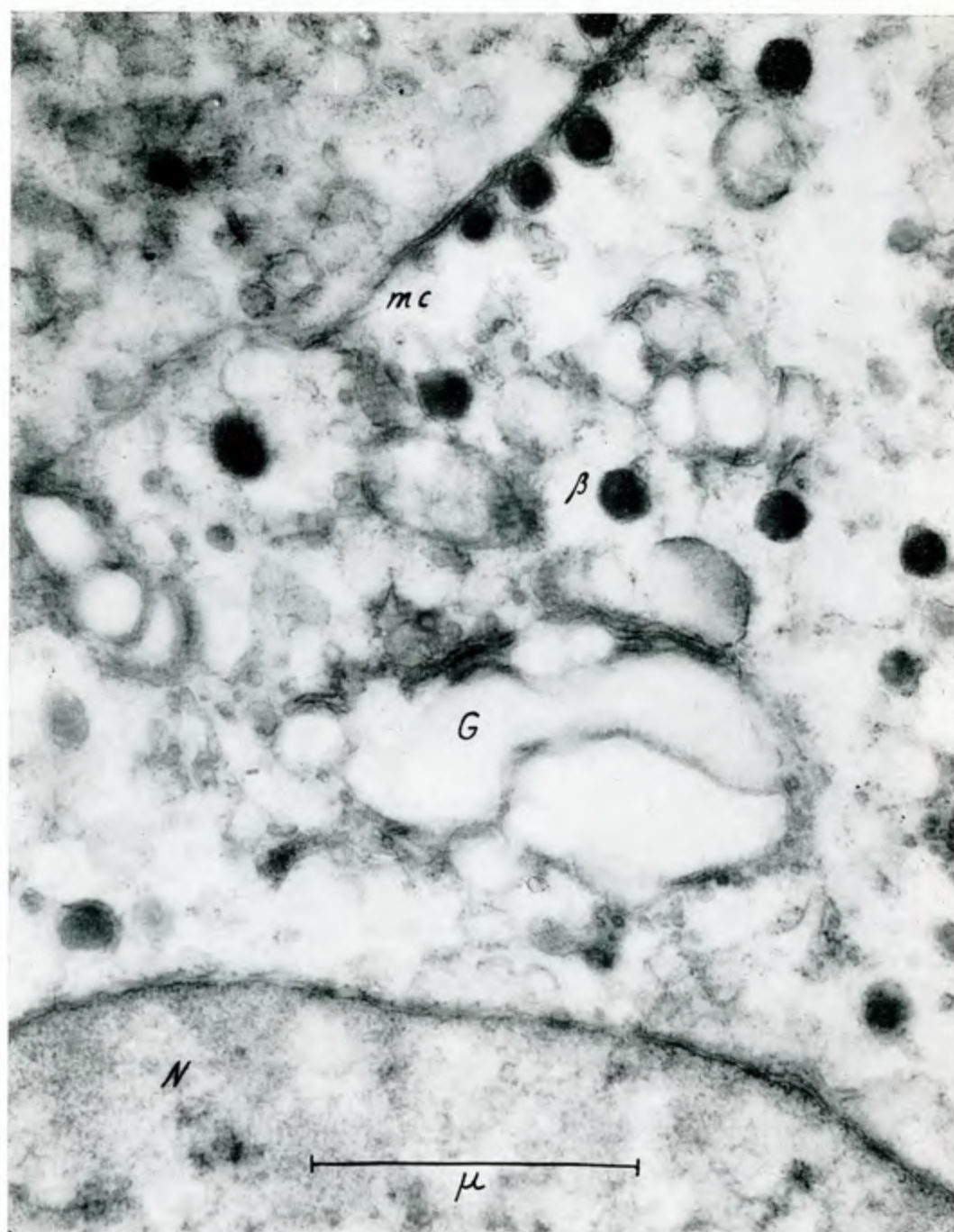


Fig. 5 — Aspecto parcial de uma célula  $\beta$  do pâncreas endócrino de rato. N — núcleo; G — aparelho de Golgi; mc — membrana celular;  $\beta$  — granulações. Ampliação 47.000  $\times$

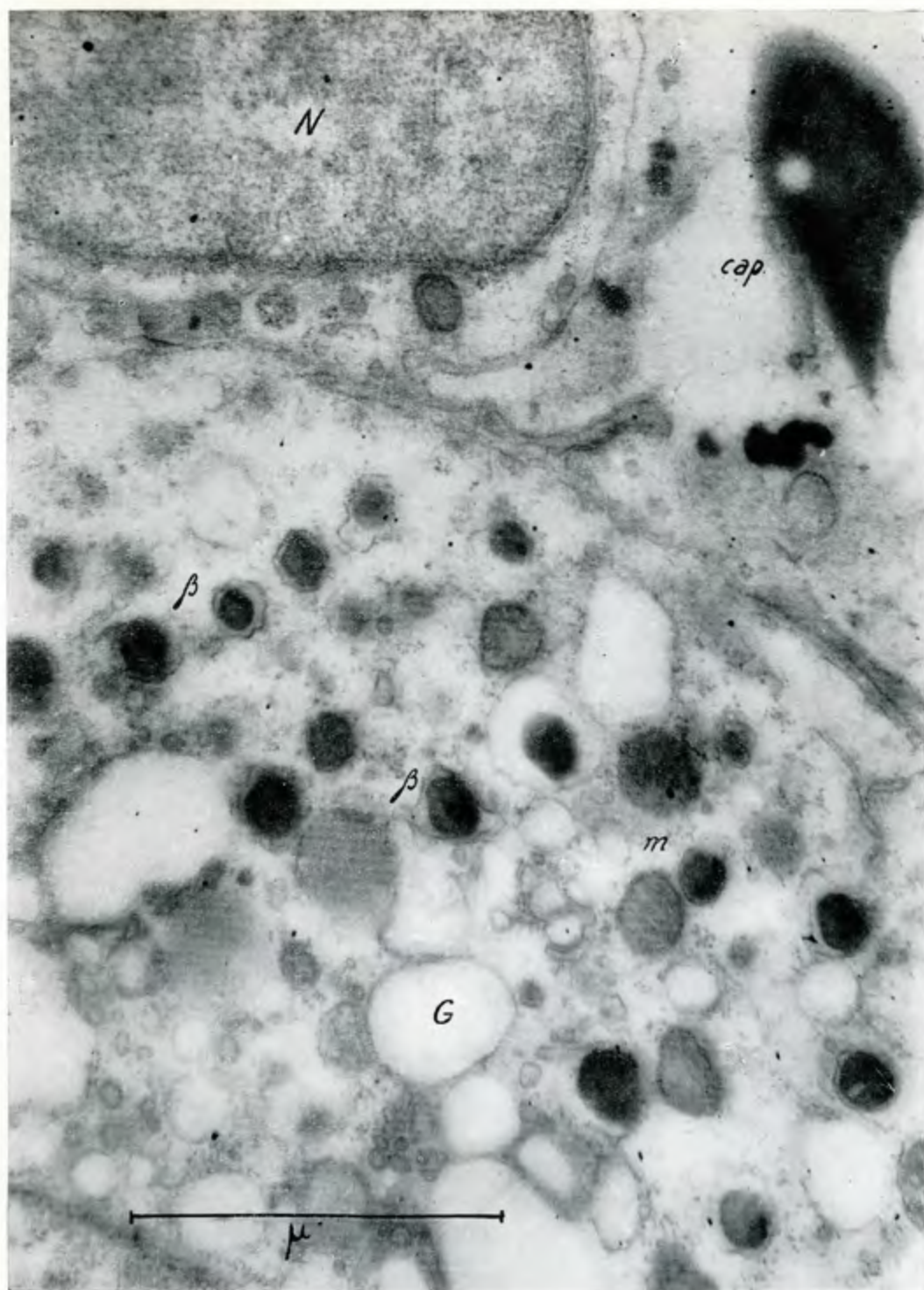


Fig. 6 — Relações entre uma célula  $\beta$  e um capilar. N — núcleo de uma célula endotelial; cap — lúmen do capilar; G — aparelho de Golgi;  $\beta$  — granulações; m — mitocôndria. Ampliação 55.000 $\times$



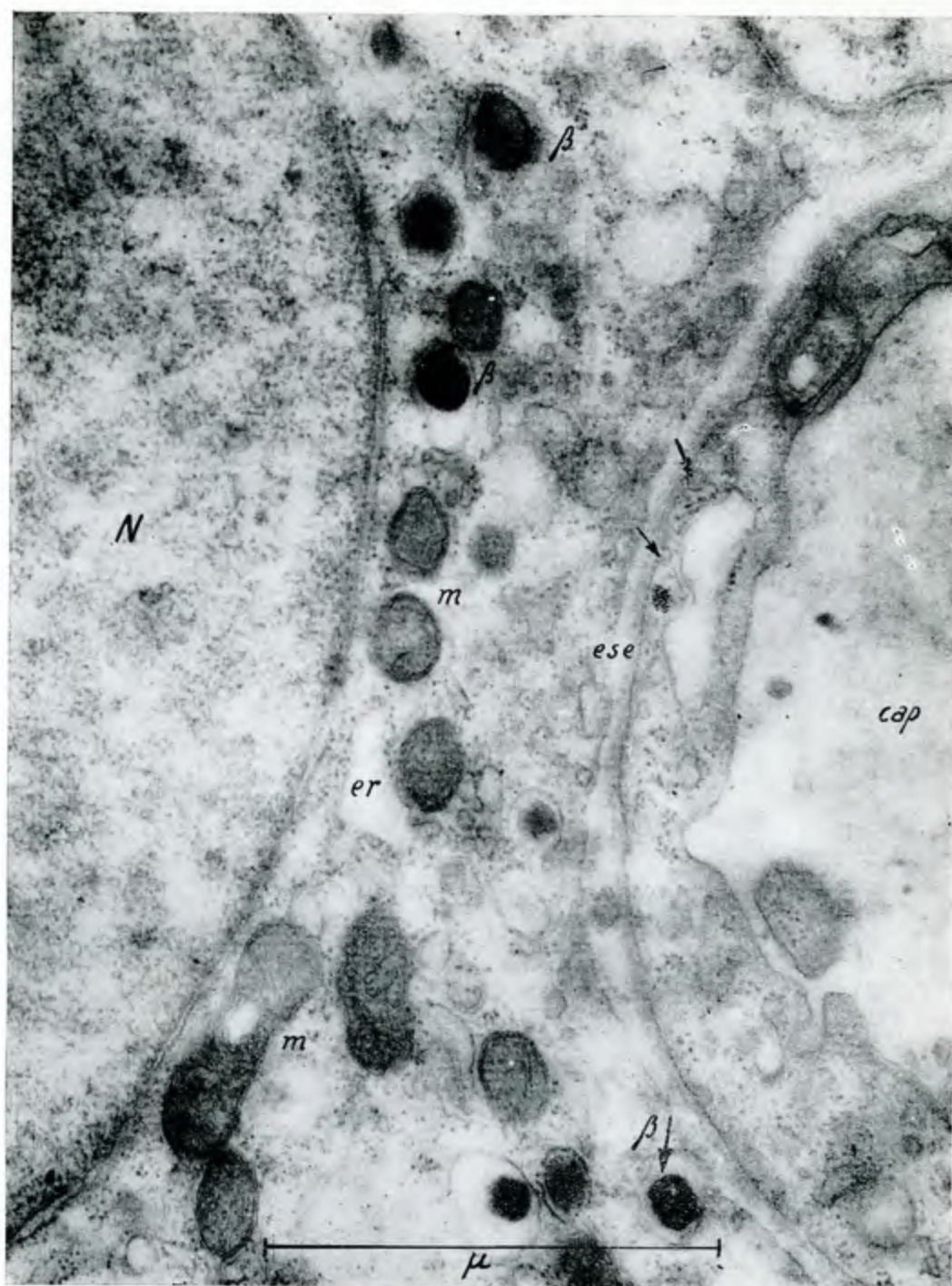


Fig. 7 — Relações entre uma célula  $\beta$  e um capilar, N — núcleo; m — mitocôndrias; er — ergastoplasma;  $\beta$  — granulações; ese — espaço subendotelial. Ampliação 65.000 $\times$



a) *Génese das granulações*

A relação entre o aparelho de Golgi e os produtos de secreção foi assinalada pela primeira vez por CAJAL<sup>3</sup>.

Depois de CAJAL muitos outros autores têm admitido esta relação nas células exócrinas e endócrinas.

A polaridade do aparelho de Golgi em relação com o sentido da excreção, também assinalada por CAJAL, é geralmente admitida pela literatura clássica.

O mecanismo da participação do aparelho de Golgi, na formação das granulações de secreção, deu origem a várias hipóteses que os limites da microscopia óptica não permitiram esclarecer. Depois que o desenvolvimento das técnicas da ultramicrotomia permitiram a aplicação do microscópio electrónico aos estudos citológicos, o problema tomou de novo actualidade.

SJÖSTRAND e HANZON<sup>30</sup>, num trabalho sobre o pâncreas exócrino, admitem a participação do aparelho de Golgi na formação dos grânulos de zimogénio. Dois argumentos morfológicos servem de base à sua conclusão, a localização das granulações de zimogénio em relação com o aparelho de Golgi, as imagens de transição entre as granulações do Golgi e os grânulos de secreção. Esta hipótese foi admitida com reservas por HAGENAU e BERNHARD<sup>14</sup>, nas células do lobo anterior da hipófise.

As nossas observações no pâncreas endócrino são idênticas às destes autores. Além da disposição topográfica das granulações de secreção, cujo número é maior na zona compreendida entre o aparelho de Golgi e o pólo de secreção, são muito sugestivas as imagens de transição entre as granulações do Golgi e as granulações  $\beta$  (fig. 4).

A teoria da génese das granulações de secreção a partir do condrioma, defendida na histologia clássica por alguns autores, não foi confirmada com o microscópio electrónico.

Nas preparações de pâncreas que examinamos nunca observámos nenhuma imagem que confirmasse o trabalho de CHALLICE e LACY<sup>6</sup> que defendem a formação dos grãos de zimogénio a partir das mitocôndrias.

b) *Relações entre as células e os capilares*

O espaço observado entre as células  $\beta$  e os capilares foi já descrito por vários autores noutros tecidos endócrinos.

Corresponde ao espaço descrito por DISSE em 1890 entre as células endoteliais e as células do fígado e que a microscopia electrónica tem permitido observar noutros órgãos.

FARQUHAR e RINEHART<sup>10</sup> descrevem-no no lobo anterior da hipófise, DEMPSEY e PETERSON<sup>9</sup> na tiroideia e LEVER na supra-renal<sup>19, 21</sup> e na paratiroideia<sup>20</sup>. Nos capilares da área postrema do coelho MORATO e FERREIRA<sup>22, 23</sup> observaram espaços subendoteliais de disposição idêntica à destas glândulas endócrinas.

Contrariamente a GREEN e BREMEN<sup>13</sup> que no lobo anterior da hipófise observaram no espaço subendotelial grânulos de secreção, nunca reconhecemos neste formações identificáveis com as granulações  $\beta$ .

Também não observámos neste espaço as fibrilhas de colagénio descritas por estes autores.

RINEHART e FARQUHAR<sup>28</sup> descreveram nos espaços pericapilares do lobo anterior da hipófise massas citoplásmicas contendo granulações. Segundo estes autores o produto de secreção contido nas granulações seria solubilizado no espaço pericapilar, passando seguidamente para a circulação. Não observámos no pâncreas endócrino imagens equivalentes às destes autores.

As nossas observações sugerem que as granulações  $\beta$  formadas a partir do aparelho de Golgi se deslocam no citoplasma e entram em contacto pela sua membrana com a parede celular em relação com o capilar. O produto de secreção passaria depois para o espaço pericapilar atravessando a célula endotelial segundo o mecanismo sugerido por PALADE<sup>27</sup>.

Após estimulação da medular e do córtex supra-renal, LEVER<sup>21</sup> observou a presença dum material semi-opaco no espaço subendotelial, que interpretou como o produto de secreção.

O material semi-opaco que cobre a membrana da célula pancreática e da célula endotelial corresponde à basal dos autores clássicos, não



sendo equivalente ao material observado por LEVER em condições experimentais diferentes.

Neste curto trabalho nada mais fizemos que esboçar o estudo da célula  $\beta$  dos ilhéus de LANGERHANS do rato. Os inúmeros problemas ainda existentes sobre o seu funcionamento e patologia, importantes na escala biológica e da patologia humana, tem sem dúvida na microscopia electrónica um auxiliar que de futuro em muito contribuirá para a sua solução.

## 5 — RESUMO

Foram estudados ao microscópio electrónico cortes de pâncreas de embriões (18 a 20 dias) e de ratos recém-nascidos.

Neste material as secções do tecido endócrino são mais frequentes que no pâncreas do rato adulto e os ilhéus são formados unicamente por células  $\beta$ .

Estas células, além dos elementos comuns a outros tipos celulares (condrioma, aparelho de Golgi, ergastoplasma), têm no seu citoplasma granulações esféricas com o diâmetro de 147 m $\mu$ .

O aparelho de Golgi é muito desenvolvido, podendo observar-se todos os intermediários entre os grânulos golgianos e as granulações características destas células.

As células dos ilhéus estão separadas dos capilares por um espaço — espaço pericapilar ou subendotelial. Ao seu nível as membranas da célula insular e da célula endotelial são revestidas por uma camada de uma substância amorfa (membrana basal).

O mecanismo da secreção e da excreção são discutidos.

## RÉSUMÉ

On a étudié au microscope électronique quelques coupes de pancréas d'embryons (18 à 20 jours) aussi bien que de rats nouveaux nés.

Dans ce matériel les sections du tissu endocrine sont plus fréquentes que dans le pancréas du rat adulte et les îlots sont formés exclusivement par cellules  $\beta$ .

Ces cellules outre les éléments communs à d'autres types cellulaires (condrioma, appareil de Golgi, ergastoplasma) renferment dans leur cytoplasme des granulations sphériques ayant un diamètre de 147 m $\mu$ .

L'appareil de Golgi est très développé et on peut observer tous les intermédiaires entre les granules golgiens et les granulations caractéristiques de ces cellules.

Les cellules des îlots sont séparées des capillaires par un espace — espace péricapillaire ou subendothélial. A leur niveau les membranes de la cellule insulaire et de la cellule endothéliale sont recouvertes d'une couche de substance amorphe (membrane basale).

On discute le mécanisme de la sécrétion et de l'excrétion.

## SUMMARY

Several sections of the pancreas both of embryos (18-20 days) and newly born mice were under the electronic microscope observation.

It was verified that in this material the sections of endocrine tissue are more frequent than in the pancreas of an adult mouse and the islets are formed only by cells  $\beta$ .

These cells, besides their elements common to other cellular types (condrioma, Golgi's apparatus, ergastoplasm) have in their cytoplasm, spheric granulations with a 147 m $\mu$  diameter. Their Golgi's apparatus is greatly developed and all the intermediates between Golgi's granules and the characteristic granulations of these cells can be there observed.

The cells of the islets are separated from the capillaries by means of a space — the pericapillary or subendothelial space. At this level the membranes of the insular and endothelial space. At this level the membranes of the insular and endothelial cells are covered by a layer of amorphous substance (basal membrane).

The mechanism both of the secretion and excretion is discussed.

Este trabalho, cujos resultados foram em parte apresentados no Congresso de Microscopia Electrónica realizado em Estocolmo em 1956, foi realizado no

«Institut de Recherches sur le Cancer Goustave Roussy» em Villejuif. Agradecemos ao Prof. Oberling e ao Dr. W. Bernhard as facilidades e o apoio que permitiram a sua realização.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- <sup>1</sup> BENSLEY, R. R. — *Am. J. Anat.*, 12: 297, 1911.
- <sup>2</sup> BERNHARD, W.; HAGUENAU, F. e OBERLING, CH. — *Experientia*, 8: 58, 1952.
- <sup>3</sup> BERNHARD, W.; BAUER, A.; GROPP, A.; HAGUENAU, F. e OBERLING, CH. — *Exp. Cell Research*, 9: 88, 1955.
- <sup>4</sup> BERNHARD, W. — *Exp. Cell Research*, 8: 248, 1955.
- <sup>5</sup> CAJAL, S. R. — *Trab. Lab. Inv. Biol.*, 12: 127, 1914.
- <sup>6</sup> CHALLICE, C. E. e LACY, D. — *Nature*, 174: 1150, 1954.
- <sup>7</sup> DALTON, A. J. — *Am. J. Anat.*, 89: 109, 1951.
- <sup>8</sup> DALTON, A. J. e FELIX, M. D. — *Am. J. Anat.*, 94: 171, 1954.
- <sup>9</sup> DEMPSEY, E. W. e PETERSON, R. R. — *Endoc.*, 56: 46, 1955.
- <sup>10</sup> FARQUHAR, M. G. e RINEHART, J. F. — *Endoc.*, 55: 857, 1954.
- <sup>11</sup> GOMORI, G. — *Anat. Rec.*, 74: 439, 1939.
- <sup>12</sup> — *Am. J. Path.*, 15: 497, 1939.
- <sup>13</sup> GREEN, J. D. e VAN BREEMEN, V. L. — *Am. J. Anat.*, 97: 177, 1955.
- <sup>14</sup> HAGUENAU, F. e BERNHARD, W. — *Arch. d'Anat. Micr. Morph. Exp.*, 44: 27, 1955.
- <sup>15</sup> HARD, W. — *Am. J. Anat.*, 75: 369, 1944.
- <sup>16</sup> LAGUESSE, E. — *J. de l'Anat. et de la Phys.*, 32: 209, 1896.
- <sup>17</sup> — Rapport au 16<sup>e</sup> Congrès Int. de Médecine, Budapest, 1909.
- <sup>18</sup> LANE, M. A. — *Am. J. Anat.*, 7: 409, 1907.
- <sup>19</sup> LEVER, J. D. — *Endoc.*, 57: 621, 1955.
- <sup>20</sup> — *J. Bioph. Bioch. Cytol.*, 2-4: Suppl., 293, 1955.
- <sup>21</sup> — *Am. J. Anat.*, 93: 409, 1955.
- <sup>22</sup> MORATO, M. J. X. e FERREIRA, D. — Comunicação à 44.<sup>a</sup> Réunion de l'Association des Anatomistes, Leiden, 1957.
- <sup>23</sup> — *C. R. Soc. Biol.*, 151: 1488, 1957.
- <sup>24</sup> NERENBERG, S. T. — *Ann. Arch. Path.*, 58: 236, 1954.
- <sup>25</sup> OPIE, E. L. — Cytology of the Pancreas, in special Cytology, pg. 373, ed. by E. V. Cowdry, New York, 1932.
- <sup>26</sup> PALADE, G. E. — *Anat. Rec.*, 114: 427, 1952.
- <sup>27</sup> — *J. Bioph. Bioch. Cytol.*, 2-4: Suppl., 1956.
- <sup>28</sup> RINEHART, J. F. e FARQUHAR, M. G. — *Anat. Rec.*, 121: 207, 1955.
- <sup>29</sup> ROBERTSON, J. S. — *Austral. J. Exp. Biol.*, 32: 229, 1954.
- <sup>30</sup> SJÖSTRAND, F. S. e HANZON, V. — *Exp. Cell Research*, 7: 415, 1954.
- <sup>31</sup> TSCHASSOWNIKOW, A. — *Arch. Mikr. Anat.*, 67: 758, 1909.



COMPOSIÇÃO E IMPRESSÃO  
SERVIÇOS GRÁFICOS DA CUF  
RUA CASCAIS - LISBOA