

## HISTOMETRIA DO PÂNCREAS DO GAMBÁ SUL-AMERICANO<sup>1</sup>

Cláudio César Fonseca<sup>2</sup>  
José Carlos Nogueira<sup>3</sup>  
Alfredo J. A. Barbosa<sup>4</sup>

### RESUMO

Visando identificar aspectos histométricos e volumétricos do pâncreas do gambá sul-americano (*Didelphis albiventris*) em desenvolvimento intramarsupial e adulto, para fornecer subsídios para a identificação quantitativa dos vários componentes do pâncreas endócrino e exócrino, procedeu-se ao estudo morfométrico dos seus constituintes histológicos. Foram obtidos valores percentuais médios dos ácinos secretores, do estroma de sustentação, dos ductos excretores e das ilhotas pancreáticas, além dos artefatos decorrentes da técnica histológica. A partir desses percentuais aplicados ao volume total do pâncreas obteve-se o volume de cada constituinte pesquisado pela histometria. Os ácinos secretores apresentaram aumentos significativos percentual e volumétrico, enquanto o estroma e os ductos excretores diminuíram percentualmente, mas aumentaram volumetricamente dos animais jovens para os adultos. Por sua vez, as ilhotas pancreáticas, embora apresentando crescimento volumétrico significativo, não variaram percentualmente entre os jovens e adultos.

Palavras-chave: *Didelphis albiventris*, histometria, volumetria, pâncreas.

---

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 13.05.2004.

<sup>2</sup> Departamento de Veterinária, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/UFV. Av. P.H. Rolfs, s/n. 36570-000 Viçosa, MG-Brasil. E-mail: fonseca@ufv.br

<sup>3</sup> Departamento de Morfologia. Instituto de Ciências Biológicas/UFMG. Av. Antônio Carlos, 6.627. 31270-010 Belo Horizonte, MG-Brasil. E-mail: jcarlos@icb.ufmg.br

<sup>4</sup> Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal. Faculdade de Medicina/UFMG. Av. Prof. Alfredo Balena, 190. 30130-100 Belo Horizonte, MG-Brasil. E-mail: abarbosa@medicina.ufmg.br

## ABSTRACT

### HISTOMETRY OF PANCREAS OF THE SOUTH AMERICAN OPOSSUM

The volumetric and histometric features of the endocrine and exocrine pancreas in young and adult South American opossum (*Didelphis albiventris*) were investigated. The means of the relative values (%) of secretory acinus, stroma, excretory ducts and pancreatic islets were determined. The total volume of each type of structure was calculated by multiplying the relative value by the total pancreatic volume. Significant differences were detected when young animals were compared to adults: the relative value and volume of the secretory acinus was larger in the adult than in the young animals; the relative values, but not the volume, of the stroma and excretory ducts were reduced in adults and the relative value of the pancreatic islets did not change despite an increase in volume.

Key words: *Didelphis albiventris*, histometry, volumetry, pancreas.

## INTRODUÇÃO

O pâncreas de mamíferos eutérios tem sido estudado quantitativamente em diferentes aspectos. Entretanto, a maioria das citações histológicas refere-se especificamente à morfometria das ilhotas pancreáticas normais (1, 4, 5, 6, 9, 13, 14, 24), alteradas (12, 17, 20, 23) e das células endócrinas nas ilhotas (2, 3, 7, 8, 12, 13, 16, 19, 28). Estes estudos referem-se à morfometria das células presentes nas ilhotas pancreáticas, às variações quantitativas entre elas e à distribuição das ilhotas nas regiões duodenal (cabeça), do ânulo (corpo) e esplênica (cauda), do pâncreas.

Alguns estudos morfométricos relatam proporções volumétricas do pâncreas, como o de Kroustrup e Gundersen (14), quando verificaram que a fração de volume das ilhotas pancreáticas correspondia a  $1,3 \pm 0,3\%$  do volume total do pâncreas de cães e, nas ilhotas pancreáticas,  $95,8 \pm 1,4\%$  do volume total correspondiam às células endócrinas e  $4,2 \pm 1,4\%$  ao interstício (tecido conjuntivo, endotélio e lúmen vascular). Citações morfométricas envolvendo tanto aspectos do pâncreas endócrino quanto do exócrino são raros. Entretanto, Tsubouchi et al. (25) verificaram que as células acinares e as das ilhotas pancreáticas de camundongos adultos aumentavam em número, indicando que são populações celulares em expansão. Segundo Kaung (10), em ratos, há crescimento diferencial de células endócrinas e exócrinas durante o desenvolvimento do pâncreas. Este autor mostrou que o crescimento de uma população celular não é

obtido apenas pela proliferação celular, mas também por diferenciação de células indiferenciadas, e que isso cria a possibilidade de que as possíveis perdas celulares possam ter um papel na modulação do tamanho das populações celulares do pâncreas.

Segundo outros relatos, a quebra do colágeno do estroma é fundamental para a dissociação enzimática do pâncreas, permitindo melhor isolamento de ilhotas do tecido pancreático. Warnock et al. (27) e Van Suylichem et al. (26) procederam à quantificação do colágeno no interstício pancreático, na tentativa de verificar a qualidade do pâncreas endócrino de doadores.

Os principais estudos morfométricos do pâncreas de marsupiais referem-se apenas à porção endócrina em animais nativos da Austrália (2, 3, 15, 18) e no gambá norte-americano *Didelphis virginiana* (13).

O objetivo deste estudo foi determinar a distribuição, quantificação e volumetria dos constituintes endócrinos e exócrinos em cada uma das diferentes regiões do pâncreas do gambá sul-americano *Didelphis albiventris*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados pâncreas de cinco gambás *Didelphis albiventris* Lund, 1841 (Marsupialia) adultos e dois filhotes intramarsupiais, capturados na região metropolitana de Belo Horizonte, Minas Gerais, com licença do IBAMA (n<sup>os</sup> 003/92 e 28/93).

Os animais foram sacrificados com Nembutal a 6%, via intraperitoneal, sendo então submetidos à abertura da cavidade abdominal, de onde os pâncreas foram observados e dissecados sob lupa estereoscópica Baush & Lomb. Após removidos, pesados e submetidos à técnica de volumetria (22), sendo obtidos fragmentos das regiões duodenal, do ânulo e esplênica do pâncreas (Figura 1), estes foram fixados em líquido de Bouin (12 – 24 h), incluídos em parafina, seccionados a 4 µm de espessura e corados por H-E.

Para se determinarem os valores percentuais de cada um dos constituintes pancreáticos (ácinos, ductos, ilhotas, estroma, artefatos), foi feita a sua contagem diferencial, por meio de ocular graduada contendo 25 pontos equidistantes, em 40 campos de observação aleatórios, com três repetições, perfazendo 3.000 observações. Foram quantificados os ácinos, ductos e o estroma conjuntivo na porção exócrina e as ilhotas pancreáticas na porção endócrina do pâncreas, sendo também assinalados os artefatos de técnicas observados.

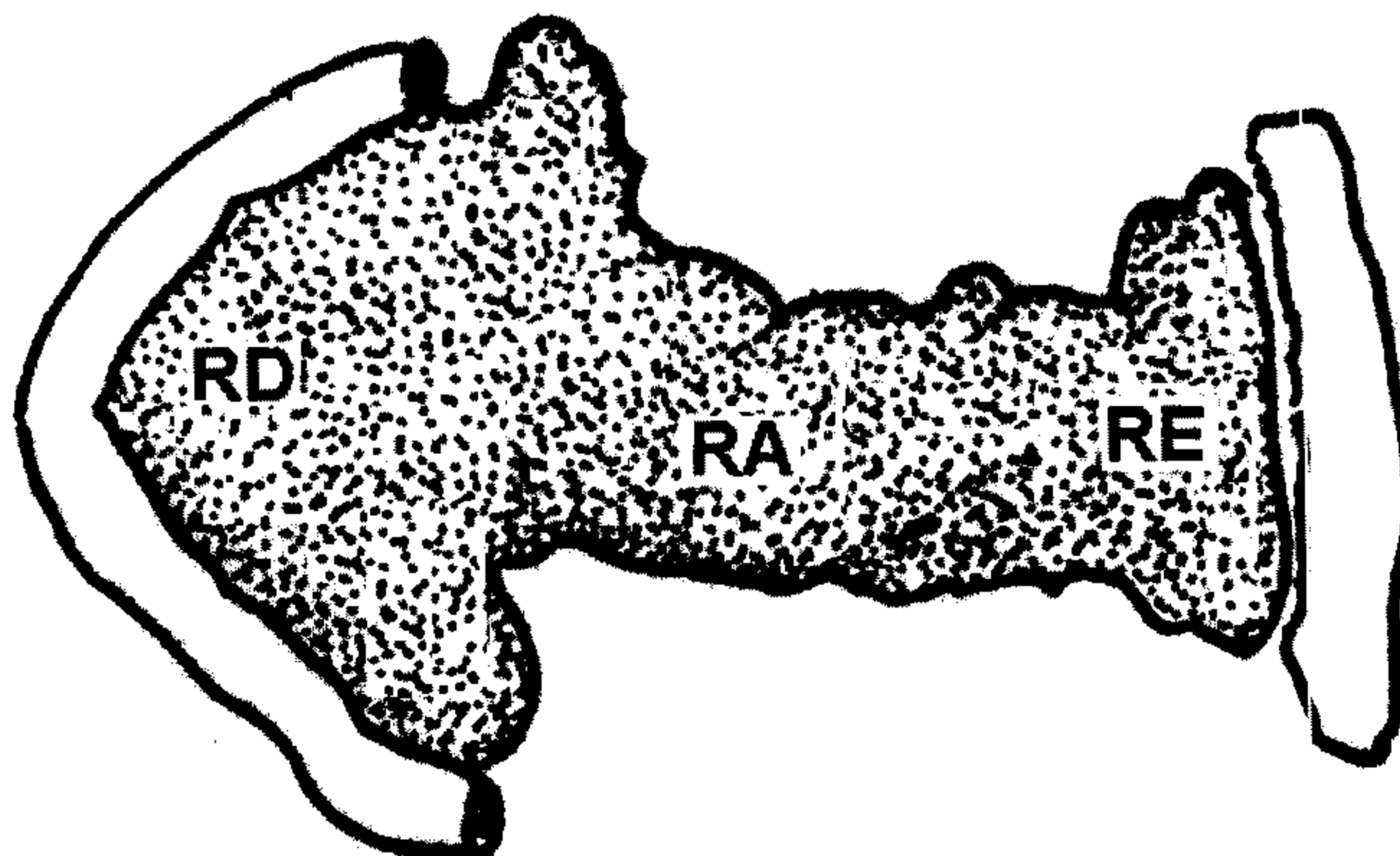


FIGURA 1 - Pâncreas do *D. albiventris*. RD, região duodenal; RA, região do ânulo; RE, região esplênica.

## RESULTADOS

A morfometria não mostrou variação significativa dos constituintes entre as regiões duodenal, do ânulo e esplênica do pâncreas do gambá. Na porção exócrina, o percentual médio de ácinos pancreáticos foi de  $60,3 \pm 6,9\%$  na região duodenal, de  $62,9 \pm 6,6\%$  no ânulo e de  $61,8 \pm 6,5\%$  na região esplênica de animais adultos. Nos filhotes intramarsupiais os percentuais foram de  $48,1 \pm 4,3\%$ ;  $51,0 \pm 8,4\%$ ; e  $50,0 \pm 6,8\%$ , respectivamente, nas três regiões do pâncreas, resultados que diferiram significativamente daqueles obtidos nos animais adultos. Nestes não se observou variação significativa entre os percentuais de ácinos, enquanto dos adultos para os jovens a variação de  $67,5 \pm 1,8$  para  $49,6 \pm 1,4$  foi significativa (Quadro 1).

Os ductos excretores do pâncreas (Quadro 1, Figuras 2 e 3) apresentaram-se mais abundantes nos filhotes que nos adultos. Variações de  $2,3 \pm 0,3\%$ ,  $2,1 \pm 0\%$  e  $2,2 \pm 0,2\%$  nas regiões duodenal, do ânulo e esplênica nos jovens diferiram significativamente nas mesmas regiões do animal adulto, que apresentaram percentuais de  $0,3 \pm 0,3$ ;  $0,4 \pm 0,3$  e  $0,9 \pm 0,7$ , respectivamente.

O estroma de sustentação (Quadro 1, Figuras 2 e 3), de maneira semelhante ao ocorrido com os ductos pancreáticos, apresentou-se mais abundante nos filhotes que nos adultos. Variou de  $39,5 \pm 10,0\%$  nas regiões duodenal e do corpo a  $41,5 \pm 7,1\%$  na região esplênica do pâncreas

dos animais jovens e de  $30,5 \pm 8,4\%$ ,  $27,0 \pm 9,4\%$  e  $28,8 \pm 9,0\%$  nas mesmas regiões do pâncreas de animais adultos.

QUADRO 1 - Percentual médio (%) $\pm$ epm dos constituintes estruturais do pâncreas do gambá <i>Didelphis albiventris</i>					
Animal	Ácinos	Estroma	Ilhotas	Ductos	Artefatos
1	$57,6 \pm 2,1$	$26,5 \pm 3,9$	$3,1 \pm 0,9$	$1,1 \pm 0,7$	$11,6 \pm 3,1$
2	$62,4 \pm 3,1$	$21,1 \pm 1,5$	$2,7 \pm 1,4$	$0,1 \pm 0,1$	$13,0 \pm 4,2$
3	$67,1 \pm 2,7$	$26,5 \pm 5,2$	$2,6 \pm 0,5$	$0,5 \pm 0,4$	$8,1 \pm 2,3$
4	$68,1 \pm 1,7$	$23,4 \pm 2,6$	$2,4 \pm 0,5$	$0,3 \pm 0,2$	$6,7 \pm 0,5$
5	$52,9 \pm 0,2$	$21,1 \pm 0,5$	$3,5 \pm 0,7$	$0,2 \pm 0,3$	$6,2 \pm 2,5$
Média	$67,5 \pm 1,8^*$	$21,4 \pm 0,1^*$	$3,6 \pm 0,9$	$0,4 \pm 0,3^*$	$7,1 \pm 3,1^*$
6	$54,3 \pm 2,9$	$33,6 \pm 2,1$	$4,2 \pm 1,1$	$2,3 \pm 0,2$	$1,8 \pm 0,6$
7	$45,1 \pm 0,0$	$43,1 \pm 0,3$	$7,6 \pm 0,0$	$2,1 \pm 0,0$	$5,2 \pm 5,1$
Média	$49,6 \pm 1,4^*$	$34,2 \pm 2,6^*$	$4,8 \pm 0,5$	$2,2 \pm 0,2^*$	$2,3 \pm 1,4^*$

Animais 1 a 5, adultos; 6 e 7, filhotes intramarsupiais.  
epm: erro-padrão da média.  
\*  $p \leq 0,05$ .

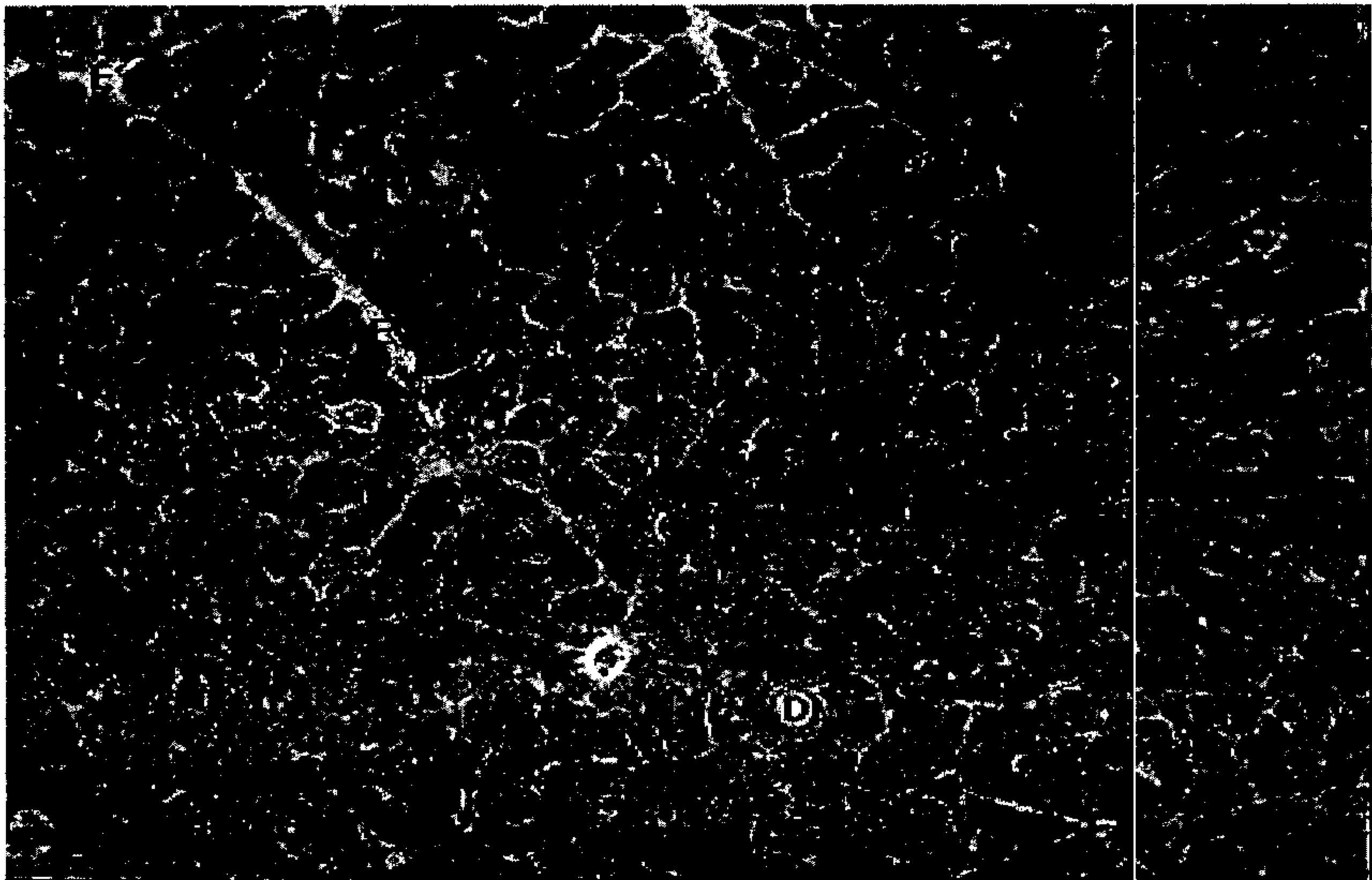


FIGURA 2 - Aspecto do parênquima pancreático de *D. albiventris*. E – estroma; I - ilhota; D - ducto pancreático; A - ácino. HE. 100X.

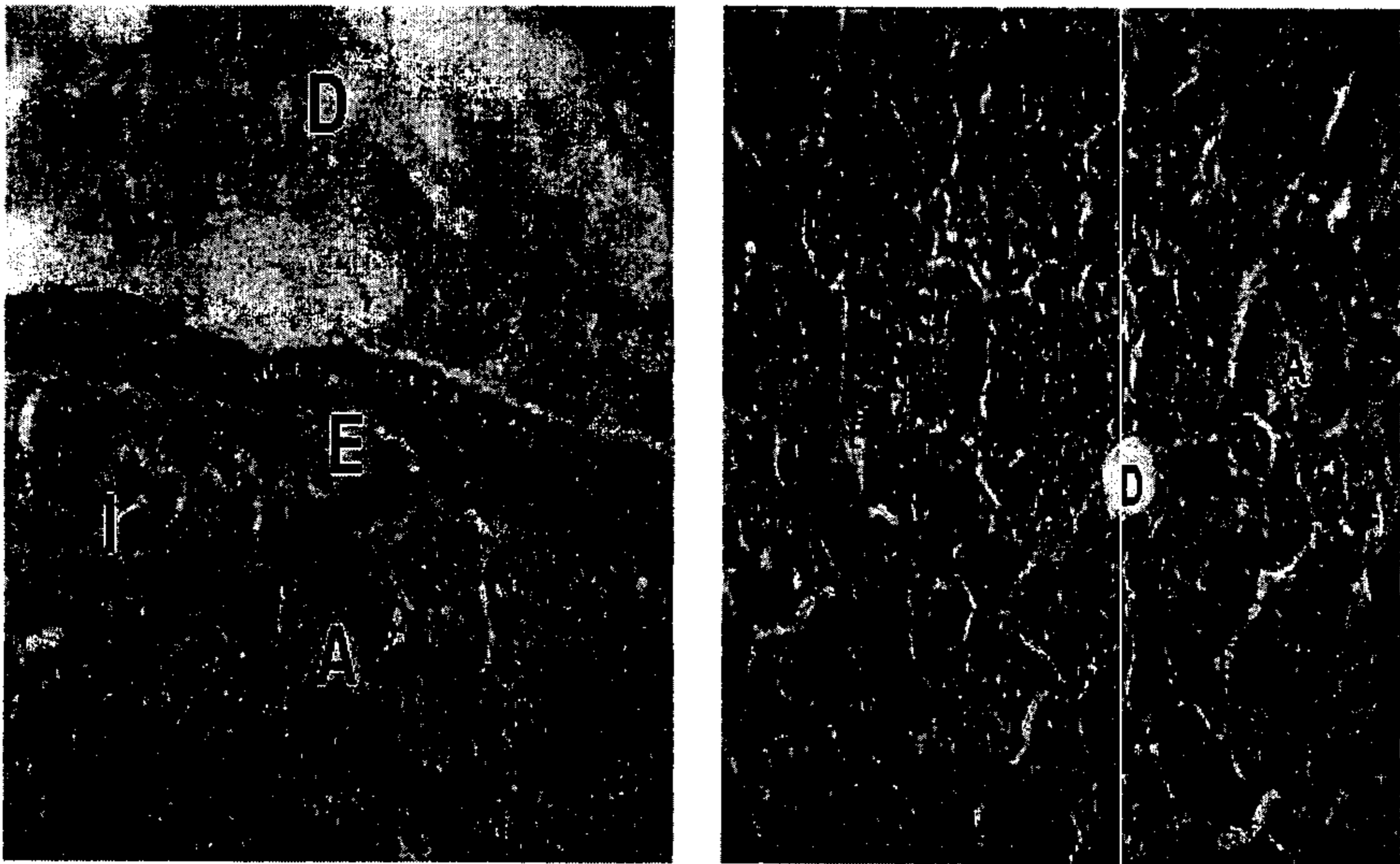


FIGURA 3 - Pâncreas de *D. albiventris*. À esquerda, detalhe de ducto interlobular (D) seccionado longitudinalmente, separado de ilhota pancreática em formação (I) por estroma conjuntivo (E) que penetra entre os ácinos (A). À direita, ducto intralobular (D) seccionado transversalmente em meio a ácinos pancreáticos (A), envolvidos por estroma conjuntivo (E). HE. 400X.

As ilhotas pancreáticas (Quadro 1, Figuras 2 e 3) apresentaram maiores proporções nos filhotes intramarsupiais que nos adultos, variando de  $5,2 \pm 3,3\%$ ,  $6,4 \pm 1,7\%$  e  $6,0 \pm 2,2\%$ , respectivamente, nas regiões duodenal, do ânulo e esplênica do pâncreas de animais jovens, a  $3,0 \pm 0,8\%$ ,  $2,4 \pm 0,8$  e  $2,9 \pm 0,9\%$ , respectivamente, nas mesmas regiões do adulto, diferindo significativamente entre as regiões do ânulo e esplênica.

Segundo técnica de volumetria descrita por Scherle (22), foi obtida a proporção volumétrica de cada um dos constituintes pesquisados (Quadro 2). O volume destes elementos apresentou tendência semelhante àqueles percentuais de observação descritos anteriormente.

QUADRO 2 Volume médio (ml) $\pm$ epm dos constituintes estruturais do pâncreas do gambá <i>Didelphis albiventris</i>					
Animal	Ácinos	Estroma	Ilhotas	Ductos	Artefatos
1	0,81 $\pm$ 0,03	0,4 $\pm$ 0,05	0,03 $\pm$ 0,01	0,07 $\pm$ 0,11	0,16 $\pm$ 0,04
2	0,73 $\pm$ 0,02	0,2 $\pm$ 0,02	0,02 $\pm$ 0,006	0,001 $\pm$ 0,001	0,13 $\pm$ 0,04
3	1,40 $\pm$ 0,05	0,5 $\pm$ 0,05	0,04 $\pm$ 0,01	0,006 $\pm$ 0,005	0,13 $\pm$ 0,01
4	1,06 $\pm$ 0,02	0,3 $\pm$ 0,006	0,04 $\pm$ 0,01	0,003 $\pm$ 0,004	0,09 $\pm$ 0,04
5	1,30 $\pm$ 0,05	0,3 $\pm$ 0,07	0,03 $\pm$ 0,01	0,005 $\pm$ 0,002	0,10 $\pm$ 0,05
Média	1,00 $\pm$ 0,05*	0,40 $\pm$ 0,08*	0,04 $\pm$ 0,01*	0,02 $\pm$ 0,09*	0,12 $\pm$ 0,03
6	0,04 $\pm$ 0,005	0,02 $\pm$ 0,006	0,003 $\pm$ 0,001	0,001 $\pm$ 0,0005	0,004 $\pm$ 0,004
7	0,02 $\pm$ 0,00	0,02 $\pm$ 0,00	0,003 $\pm$ 0,00	0,008 $\pm$ 0,00	0,008 $\pm$ 0,00
Média	0,04 $\pm$ 0,007*	0,02 $\pm$ 0,0*	0,003 $\pm$ 0,001*	0,001 $\pm$ 0,0007*	0,005 $\pm$ 0,004
Animais 1 a 5, adultos; 6 e 7, filhotes intramarsupiais. epm: erro-padrão da média. * $p \leq 0,05$ .					

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A grande maioria de estudos quantitativos relacionados com a histometria do pâncreas refere-se a aspectos relacionados com a porção endócrina, sendo raras as citações direcionadas para a morfometria dos constituintes pancreáticos exócrinos, suas relações intrínsecas e com as ilhotas pancreáticas. Dentre esses, Kroustroup e Gundersen (14) indicaram morfometricamente que as ilhotas pancreáticas correspondiam a cerca de  $1,3 \pm 0,2\%$  da constituição total do pâncreas de cães SRD adultos, representando 0,6 ml no volume de pâncreas com 44,7 g de peso.

Em coelhos, Sato e Herman (21) verificaram que as ilhotas pancreáticas representavam  $2,2 \pm 0,2\%$  do volume do pâncreas, e as células endócrinas cerca de  $95,8\%$  do volume total da ilhota. No gambá *D. albiventris*, as ilhotas pancreáticas representaram  $2,7 \pm 0,8\%$  nos animais adultos e  $5,9 \pm 2,0\%$  dos constituintes pancreáticos nos jovens intramarsupiais. Esta maior proporção de ilhotas pancreáticas no animal jovem deve-se ao fato de a porção exócrina do pâncreas apresentar desenvolvimento maior apenas no terço final da vida intramarsupial (11), verificando-se, desta fase em diante, crescimento constante (7). Entretanto, segundo Tsubouchi et al. (25), em camundongos a porção exócrina do pâncreas apresenta renovação constante tanto de células acinares quanto das que revestem os ductos excretores.

Kroustroup e Gundersen (14) indicaram, sem distinção entre seus componentes, que a porção exócrina do pâncreas de cães adultos representa cerca de  $98,7\%$  de seu volume total, e a porção endócrina,  $1,3\%$ . Kaung (10) verificou que em ratos recém-nascidos o volume total do pâncreas é de  $22,8 \pm 1,3$  ml, e o das células endócrinas é de cerca de  $0,21 \pm 0,1$  ml, ou seja,  $1,05\%$  do volume total do pâncreas. Pelas observações do pâncreas do gambá *D.*

*albiventris*, as ilhotas pancreáticas representaram  $5,9 \pm 2,0\%$  do volume total do órgão, aproximadamente cinco vezes mais que em ratos recém-nascidos. Esta proporção diminuiu no adulto, quando representou cerca de  $2,7 \pm 0,8\%$ , ou duas vezes mais que o observado em cães adultos.

As observações deste estudo indicaram que, do filhote em desenvolvimento para o adulto, os ácinos pancreáticos aumentaram em número e, inversamente, diminuíram percentualmente as ilhotas pancreáticas. Estas evoluções estão em concordância com os resultados obtidos por Kaung (10) em ratos. Entretanto, verificou-se diminuição na proporção de ductos excretores e do estroma de sustentação, que constituem segmento significativo da porção exócrina. Van Suylichem et al. (26) verificaram, em porcos jovens, maior quantidade de colágeno nos septos de tecido conjuntivo, quando comparado a animais adultos. Estes resultados não foram comparados entre grupos de marsupiais, em virtude da ausência de relatos enfatizando aspectos morfométricos, ontogenéticos e quantitativos nestas espécies de mamíferos.

### CONCLUSÕES

1) As modificações nas porções morfológicas constituintes do pâncreas do gambá sul-americano (*Didelphis albiventris*) são alterações dinâmicas semelhantes àquelas dos mamíferos eutérios.

2) Quanto aos aspectos quantitativos, o mais demonstrativo é aquele relacionado com a involução percentual das ilhotas pancreáticas, que mesmo diminuindo sua proporção em relação ao volume do pâncreas, do filhote ao gambá adulto, apresenta valores elevados no adulto.

3) As ilhotas pancreáticas apresentam números elevados no gambá adulto se comparados a mamíferos eutérios como o rato, coelho e cão.

### REFERÊNCIAS

1. BONNEVIE-NIELSEN, V. & SKOVGARD, L.T. Pancreatic islet volume distribution: direct measurement in preparations stained by perfusion in situ. *Acta Endocrinologica*, 105: 379-84, 1984.
2. EDWIN, N. Quantitative estimation of islet tissue in adult grey kangaroos (*Macropus fuliginosus*). *Journal of Zoology*, 203: 125-33, 1984.
3. EDWIN, N. Quantitative estimation of islet tissue of pancreas in possums (*Trichosurus vulpecula*). *Journal of Zoology*, 197: 455-61, 1982.
4. EDWIN, N. Quantitative estimation of islet tissue of pancreas in spinifex hopping mouse (*Notomys alexis*). *Journal of Zoology*, 206: 191-201, 1985.
5. EDWIN, N. Quantitative estimation of islet tissue of pancreas in water rat (*Hidromys chrisogaster*). *Journal of Zoology*, 207: 277-88, 1985.
6. ELAYAT, A.A.; EL-NAGGAR, M.M. & TAHIR, M. An immunocytochemical and morphometric study of the rat pancreatic islets. *Journal of Anatomy*, 186: 629-37, 1995.



7. FONSECA, C.C.; NOGUEIRA, J.C. & BARBOSA, A.J.A. Immunocytochemical and ultrastructural identification of the glucagon-producing-cell in the gastric mucosa of the developing opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia). *Anatomischer Anzeiger*, 180: 477-80, 1998.
8. FONSECA, C.C.; NOGUEIRA, J.C. & BARBOSA, A.J.A. Ontogênese das células endócrinas do pâncreas, produtoras de glucagon, no *Didelphis albiventris* (Marsupialia) no período intramarsupial. *Revista Médica de Minas Gerais*, 3(3): 14, 1993.
9. HASTINGS, H.M.; SCHNEIDER, B.S.; SCHREIBER, M.A.; GORRAY, K.; MAYTAL, G. & MAIMON, J. Statistical geometry of pancreatic islets. *Proceedings of Royal Society of London*, 250: 257-61, 1992.
10. KAUNG H.-L.C. Growth dynamics of pancreatic islet populations during fetal and neonatal development of the rat. *Developmental Dynamics*, 200: 163-75, 1994.
11. KING, F.C.; KRAUSE, W.J.; CUTTS, J.H. Postnatal development of the pancreas in the opossum. *Light microscopy. Acta Anatomica*, 101: 259-74, 1978.
12. KLENSANG, U.; HAGEMANN, S.; SAEGER, W.; BAJANOWSKY, T. & FREISLEDERER, A. Morphology, immunohistochemistry and morphometry of pancreatic islets in cases of sudden infant death syndrome (SIDS). *Internal Journal of Legal Medicine*, 110: 199-203, 1997.
13. KRAUSE W.J., CUTTS, III, JH; CUTTS, J.H. & YAMADA, J. Immunohistochemical study of the developing endocrine pancreas of the opossum *Didelphis virginiana*. *Acta Anatomica*, 135: 84-96, 1989.
14. KROUSTROUP, J.P. & GUNDERSEN, H.J. Sampling problems in a heterogeneous organ: quantitation of relative and total volume of pancreatic islets by light microscopy. *Journal of Microscopy*, 132: 43-55, 1983.
15. LEIGH, C.M. & EDWIN, N. A light-microscopic immunocytochemical study of the endocrine pancreas in the Australian brush-tailed possum (*Trichosurus vulpecula*). *European Journal of Histochemistry*, 36: 237-41, 1991.
16. PETKOV, P. & HADJIISKY, P.; MARQUIE, G. Pancreatic islets histochemistry in normal sand rats (*Psammomys obesus*). *Cell Molecular Biology*, 27: 655-65, 1981.
17. PRADO, M.L. & CRUZ, A. R. Adaptation of the endocrine tissue of rat pancreas after partial pancreatectomy: a morphometric study. *Acta Anatomica*, 16: 346-52, 1983.
18. REDDY, S.; BIBBY, N.J.; FISHER, S.L. & ELLIOT, R.B. Immunolocalization of insulin, glucagon, pancreatic polypeptide, and somatostatin in the pancreatic islets of the possum *Trichosurus vulpecula*. *General and Comparative Endocrinology*, 64: 157-62, 1986.
19. REDDY, S.N.; BIBBY, N.J. & ELLIOT, R.B. Cellular distribution of insulin, glucagon, pancreatic polypeptide hormone and somatostatin in the fetal and adult pancreas of the guinea pig: a comparative immunohistochemical study. *European Journal Cell Biology*, 38: 301-5, 1985.
20. SAITO, K.; YAGINUMA, N. & TAKAHASHI, T. Differential volumetry of A, B and D cells in the pancreatic islets of diabetic and nondiabetic subjects. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 129: 273-83, 1979.
21. SATO, T. & HERMAN, L. Stereological analysis of normal rabbit pancreatic islets. *American Journal of Anatomy*, 161: 71-84, 1981.
22. SCHERLE, W. A simple method for volumetry of organs in quantitative stereology. *Zentralblatt für Mikroskopische Forschung und Methodik*, 26(1-2): 57-60, 1970.
23. STEFAN, Y.; BORDI, C.; GRASSO, S. & ORCI, L. Beckwith-Wiedemann syndrome: a quantitative, immunohistochemical study of pancreatic islet cell populations. *Diabetologia*, 28: 914-9, 1985.
24. STEFAN, Y. & FALKMER, S. Identification of four endocrine cell types in the pancreas of *Cottus scorpius* (Teleostei) by immunofluorescence and electron microscopy. *General and Comparative Endocrinology*, 42: 171-8, 1980.

25. TSUBOUSHI S.; KANO E., & SUZUKI H. Demonstration of expanding cell populations in mouse pancreatic acini and islets. *Anatomical Record*, 218: 111-5, 1987.
26. VAN SUYLICHEM, P.T.; VAN DELJNEN, J.E.; WOLTERS, G.H. & VAN SCHILFGAARDE, R. Amount and distribution of collagen in pancreatic tissue of different species in the perspective of islet isolation procedures. *Cell Transplantation*, 4: 609-14, 1995.
27. WARNOCK, G.L.; KNETEMAN, N.M.; EVANS, M.G. & RAJOTTE, R.V. Isolation of purified large mammal and human islets of Langerhans. *Hormone Metabolism Research Supplement*, 25: 37-44, 1990.
28. WIRDNAM, P.K. & MILNER, R.D.G. Quantitation of the B and A cell fractions in human pancreas from early fetal life to puberty. *Early Human Development*, 56: 299-309, 1981.