

ESTUDIO CITOLÓGICO, INMUNOCITOQUÍMICO Y ULTRAESTRUCTURAL DE LA «PARS DISTALIS» ADENOHIPOFISARIA DE CABRITOS (*Capra hircus*): CÉLULAS ACTH

(Cytological, immunocytochemical and ultrastructural studies of the «pars distalis» of the kids (*Capra hircus*): ACTH cells)

Gómez, M. A.*; Navarro, J. A.*; Bernabé, A.*; Cámara, P.*; Fernández, A. J.**; Gómez, J. C.**

* Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas y Producción Animal. Unidad Docente de Histología y Anatomía Patológica. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. Espinardo. 30071 Murcia.

** Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Unidad Docente de Histología y Anatomía Patológica. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba. Avda. Medina Azahara, s/n. 14005 Córdoba.

Recibido: 3 septiembre

Aceptado: 18 noviembre

RESUMEN

Hemos estudiado la estructura y ultraestructura de las células ACTH de la «pars distalis» de la adenohipófisis de 30 cabritos de raza Murciano-granadina (18 machos y 12 hembras), de 2-3 meses de edad y unos 8 kg de peso en canal.

Las células ACTH suponen un 16-18% del total de células glandulares y se localizan en la mitad superior de la glándula dejando libre la «zona vascular o del sexo» en corte sagital, y presentan una distribución homogénea en corte transversal. Tienen forma variable y un tamaño medio estimado de 13,84 μm en machos y de 14,73 μm en hembras. Con el microscopio electrónico se han descrito tres tipos celulares en base a la distribución y cantidad de gránulos de secreción y el desarrollo del retículo endoplásmico granular, siendo las del tipo I las que presentan menos gránulos, de localización periférica y gran desarrollo del retículo endoplásmico; las del tipo II presentan mayor número de gránulos distribuidos por todo el citoplasma y menor desarrollo del retículo endoplásmico; y las del tipo III presentan características intermedias. Los gránulos de secreción tienen un diámetro medio estimado de 293 nm en machos y de 318 nm en hembras.

Palabras clave: Células ACTH. «Pars distalis». Adenohipófisis. Inmunocitoquímica. Ultraestructura. Cabritos.

SUMMARY

The structure and ultrastructure of the ACTH cells of the adenohipophyseal «pars distalis» in kids of the Murciano-granadina breed (18 males and 12 females) has been studied, aged 2-3 months and with an average weight of 8 kg.

ACTH cells are a 16-18%. They are localized in the upper middle of the gland, leaving free the vascular or sex zone in sagittal section and show a homogeneous distribution in trasversal section. Their average size is 13,84 μm in males and 14,73 μm in females and their morphology is variable. With electron microscopy three cellular types have been found with regard to the distribution and amount of secretory granules, endoplasmic reticulum and Golgi Complex. Type I cells present less granules localized peripherically and a great granular endoplasmic reticulum development; type III cells present more granules distributed all over the cytoplasm and a lower development of granular endoplasmic reticulum; type II cells present intermediate characteristics. Spherical secretory granules have a mean diameter of 293 nm in males and 318 nm in females.

Key-words: ACTH cells. Adenohipophysis. «Pars distalis». Immunocytochemical. Ultrastructure. Kids.

INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas más controvertidos de la citología adenohipofisaria ha sido, desde hace tiempo, la identificación de las células corticotropas, ya que según GIROD (1983) con el uso sólo de los métodos de tinción convencionales la producción de ACTH se localizaba en las células acidófilas, basófilas o cromóforas, pero con la llegada de las técnicas inmunocitoquímicas y el uso de anticuerpos contra la molécula de ACTH, o de alguno de sus precursores, hoy día se individualizan de forma concluyente.

Bioquímicamente se ha establecido que esta hormona se origina de un precursor común a las LPH, MSH y endorfinas por lo que el término «corticotropa» debería ser sustituido por el de «células opiocortico-melanotropas» (GIROD, 1983). Lo anteriormente expuesto lo han demostrado varios autores como ESTIVARIZ et al. (1982) que, en diferentes especies de vertebrados (hombre, rata, cerdo, vaca, pato, serpiente, sapo y pez), observan mediante técnicas inmunocitoquímicas, la existencia de un precursor común, *pro-opiomelanocortin pro-Y-MSH*, para la ACTH, alfa-MSH, beta-MSH, LPH y endorfinas al utilizar antisueros pro-Y-MSH, apareciendo las células ACTH inmunoteñidas y todas las células de la «pars intermedia».

Con el presente trabajo pretendemos establecer las características estructurales, ultraestructurales y morfométricas de las células ACTH de cabritos de raza Murciano-granadina con la utilización de distintos métodos de tinción contrastados con la técnica inmunocitoquímica PAP.

MATERIAL Y MÉTODOS

Como material de estudio hemos empleado la adenohipófisis de 30 cabritos machos y hembras, de raza Murciano-granadina, de 2 a 3 meses de edad y un peso medio aproximado de 8 kilos (7'9856) en canal.

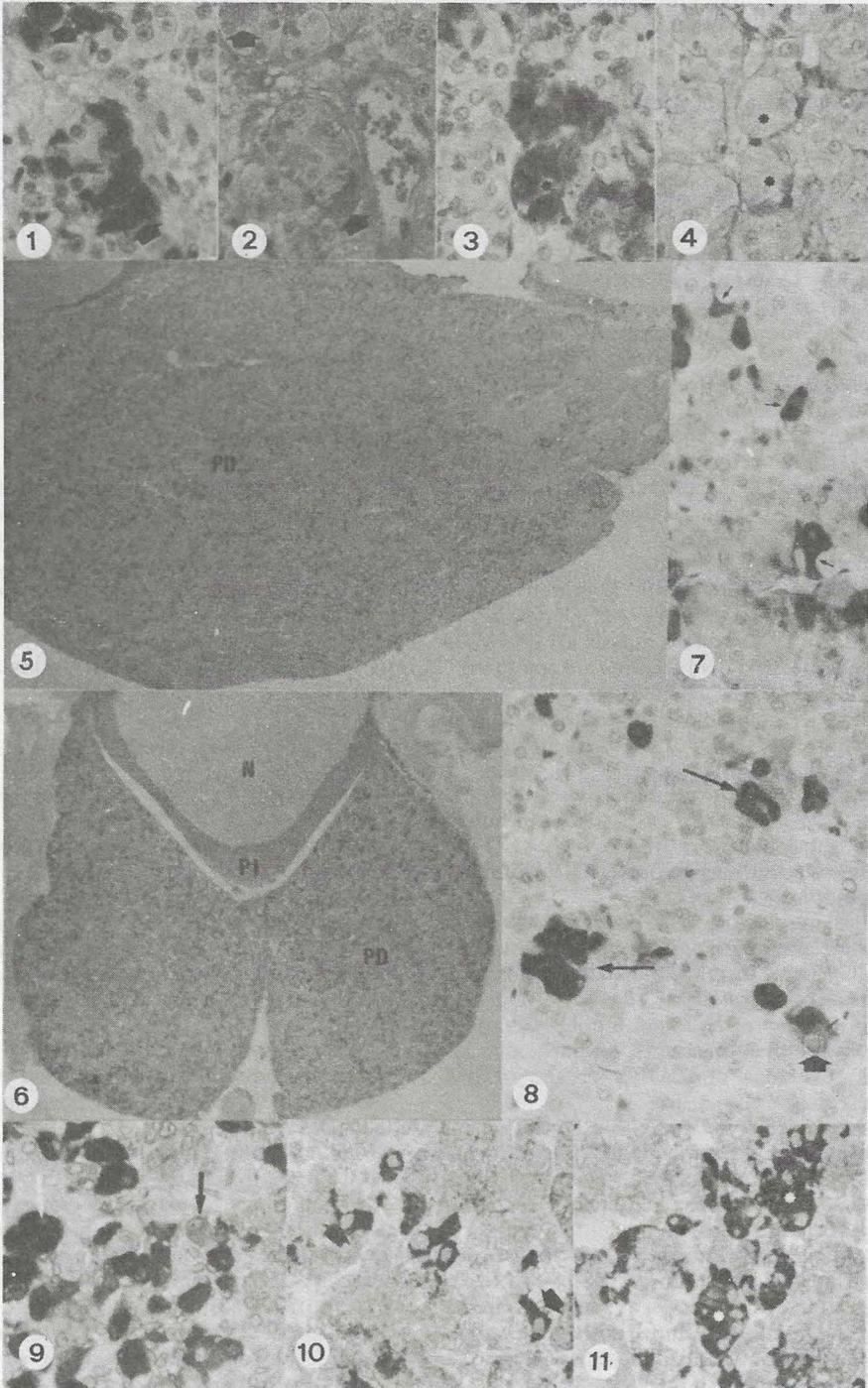
Las muestras fueron tomadas en el matadero, tras la sangría de los animales, no transcurriendo más de 2 minutos desde la muerte del animal. La extracción de la adenohipófisis se realizó tras la apertura de la cavidad craneal mediante un corte ligeramente parasagital, procediéndose a continuación a separar la masa encefálica mediante un corte a nivel de la eminencia media. Posteriormente, y en forma de «U», se levantó el «diafragma de la silla turca» procediéndose a la extracción de la glándula.

Una vez extraída se seccionó en dos mitades por su eje sagital. Una de las mitades se fijó en líquido de Gerad (GABE, 1968) para el estudio con el microscopio óptico y la otra, en glutaraldehído al 5% para el estudio ultraestructural. Además, se realizaron cortes transversales de glándulas completas por la zona media para su estudio estructural.

Estudio estructural

Tras la fijación en líquido de Gerad, las piezas se procesaron en un procesador de tejidos HISTOKINETTE, se incluyeron en paraplast con una estación de inclusión TISSUE TEK III. Los bloques se cortaron con un microtomo REICHERT JUNG 2030, obteniéndose secciones de 3 a 4 μm de espesor. Después de desparafinar se practicaron técnicas de tinción (HE, PAS, etc.) y de marcaje inmunocitoquímico.

- FIGURA 1. Células ACTH (flecha) marcadas con suero anti-ACTHh. 700 x.
FIGURA 2. Corte adyacente al anterior donde las células ACTH son PAS positivas (flecha). 700 x.
FIGURA 3. Células ACTH (flecha) marcadas con suero anti-ACTHh. 700 x.
FIGURA 4. Corte adyacente al anterior en donde las células ACTH son débilmente Azul Alcian positivas (asterisco). AA.PAS.OG. 700 x.
FIGURA 5. Distribución homogénea de las células ACTH en corte sagital, siendo más abundantes en la mitad superior de la glándula y dejando libre la porción vascular. PD= «pars distalis». Anti ACTHh. 31,5 x.
FIGURA 6. Distribución homogénea de las células ACTH en corte transversal. La «pars intermedia» (PI) aparece teñida por reacción cruzada. N= Neurohipófisis, PI= «pars intermedia» y PD= «pars distalis». 31,5 x.
FIGURA 7. Células ACTH de morfología irregular y aisladas (flecha). Anti-ACTHh. 700 x.
FIGURA 8. Células ACTH de morfología irregular, aisladas o en grupos de dos (flecha fina), invaginación nuclear y reacción negativa del Golgi (flecha gruesa y flecha pequeña). Anti-ACTHh. 700 x.
FIGURA 9. Inmunotinción doble en donde las células ACTH adquieren una coloración marrón (flecha blanca) y las TSH rojiza (flecha negra), reveladas con DAB y EAC respectivamente. 700 x.
FIGURA 10. Células ACTH aisladas (flecha) en corte semifino. Anti-ACTHh. 700 x.
FIGURA 11. Células ACTH en grupos (asterisco) con intensa inmunorreacción. Corte semifino. Anti-ACTHh. 700 x.



Para el marcaje de las células ACTH, se utilizó el método de inmunotinción de peroxidasa antiperoxidasa —PAP— de STERNBERGER (1974), modificado por BAKER (1977), que se describe a continuación.

Tras desparafinar, las secciones se introducen durante 10 minutos en un baño de Lugol para eliminar el sublimado del fijador, siendo posteriormente blanqueadas con hiposulfito sódico al 5% y, después de un lavado prolongado en agua corriente, se dejan en PBS.

1. Tratar con peróxido de Hidrógeno al 5% durante 5 minutos (eliminación de la actividad peroxidásica interna).
2. Lavado durante 5 minutos en PBS.
3. Se cubren con suero normal de cerdo diluido en Tris buffer, 0'05 M, pH 7'6 durante 20 minutos.
4. Aplicar el anticuerpo primario anti-ACTH humana (fracción Ig G de conejo prediluido en Tris buffer 0'05 pH 7'6 —DAKO—), empleándose a una dilución de 1:250 y un tiempo de incubación de 3 h a temperatura ambiente.
5. Lavado en PBS durante 20 minutos.
6. Anticuerpo secundario (Ig G de cerdo contra Ig G de conejo diluido en 0'05M en Tris buffer pH 7'6) durante 20 minutos.
7. Lavado en PBS, 20 minutos.
8. Aplicar el complejo PAP (diluido en Tris buffer 0'05M pH 7'6 DAKO) durante 20 minutos.
9. Lavado con PBS, 20 minutos.
10. Revelado con DAB (3'3'-diamino-bencidina tetrachloride. SIGMA) o AEC (3-amino-9-ethyl carbazole. DAKO) durante 5 minutos.

También fue utilizada la técnica del doble marcaje, en donde una hormona es revelada con DAB y, tras una segunda incubación con otro antisuero, se revelaba con EAC. De esta manera la DAB proporciona un color dorado a las primeras células marcadas, mientras que las segundas reveladas con AEC, presentan una tonalidad rojiza.

Fueron asimismo aplicados los controles inmunocitoquímicos recomendados por CHILDS y ELLISON (1980), utilizando secciones adyacentes, y evaluando la especificidad y sensibilidad de la reacción con los siguientes test:

- A. El antisuero primario es sustituido por suero normal de cerdo o PBS.
- B. El primer antisuero es absorbido con su antígeno homólogo antes de la incubación de la sección, utilizándose la hormona ACTH humana (SIGMA).
- C. El primer antisuero fue aplicado sobre las secciones en diluciones crecientes.

En los tests A y B, no hay reacción evidente

tras la inmunotinción de las secciones que no fueron expuestas al primer anticuerpo o en el que éste fue previamente absorbido.

En el test C, la coloración va disminuyendo en proporción a la concentración del antisuero y a altas diluciones aquélla no es evidente.

Finalmente, se realizaron diferentes tinciones histológicas e histoquímicas como la Hematoxilina-Eosina (HE), PAS, PAS-Orange G (PAS-OG), Tetracromo de HERLANT (HERLANT, 1960) modificado por RACADOT (HERLANT, 1960) modificado por RACADOT (HERLANT, 1960) modificado por RACADOT (HERLANT, 1960), Azul Alcian PAS-Orange G (AA-PAS-OG) (HERLANT, 1960), Cleveland-Wolfe (GABE, 1968), con el fin de correlacionar las apetencias tintoriales de las células ACTH con las reveladas inmunocitoquímicamente.

Estudio ultraestructural

La adenohipófisis se dividió en tres porciones: anterior, media y posterior, tomándose las muestras de la región central y periférica de cada una de las porciones anteriores, y posteriormente fueron fijadas en glutaraldehído al 5% en solución tampón fosfato según el proceder de SABATTINI et al. (1962), procediéndose, tras la fijación, a la inclusión de las piezas en Epon según la técnica de WANSON y DROCHMAN (1968):

- Líquido lavador (cacodilato más sacarosa) una noche.
- Postfijación en ácido ósmico al 1% durante 2 1/2 h a 0°C.
- Tinción en acetato de uranilo veronal a 0°C durante 2 h.
- Deshidratación en una escala de alcoholes ascendentes (30%, 50%, 70%, 90% y absoluto), un pase por cada uno y dos por el absoluto de 20 minutos cada uno.
- Oxido de propileno, dos pases de 30 minutos.
- Preinclusión en mezclas de óxido de propileno y Epon (3/1, 2/2, 1/3), una hora cada una, para dejarlo en Epon puro durante una noche.
- Finalmente se realizaron cápsulas con Epon puro.

De los bloques formados se realizaron cortes de 40 µm de espesor con un ultramicrotomo Reichert Jung, se contrastaron con acetato de uranilo al 2% y con citrato de plomo según REYNOLDS (1963).

Asimismo, se obtuvieron cortes semifinos adyacentes a los anteriores, para su observación con el microscopio de luz y sobre los que se llevó a cabo el marcaje de las células mediante el método PAP, tras ser desplastificados con metóxido de sodio, según la misma técnica

empleada para los cortes en parafina, con las siguientes variaciones:

- Los tiempos se reducen en 10 minutos.
- La incubación con el anticuerpo primario, se realiza durante 24 h a 4°C.
- Tras la incubación con el complejo PAP, se repiten todos los pasos a partir de la incubación del primer anticuerpo.

Estudio morfométrico

Se realizó directamente de los cortes incluidos en paraplast e inmunoteñidos en un microscopio Leitz dialuz 20, con cámara de vídeo incorporada, y con un objetivo de 40 aumentos, reflejándose la imagen en la pantalla del analizador de imagen semiautomático (IBAS 1) de la casa KONTRON. Los parámetros practicados en el estudio morfométrico de cada uno de los tipos celulares fueron el diámetro máximo y mínimo de la elipse, diámetro máximo, diámetro del círculo y volumen de la célula y del núcleo. El porcentaje celular se efectuó sobre una pantalla utilizando un prisma de proyección adaptado al microscopio.

Igualmente, los cortes de 40-60 μm de espesor de las muestras fueron electronografiadas con un microscopio electrónico ZEISS EM10C del Servicio de Microscopía Electrónica de la Universidad de Murcia y ampliadas a 15.000 aumentos para realizar el estudio morfométrico de los gránulos de secreción, mitocondrias y lisosomas de cada una de las células adenohipofisarias.

Los datos estadísticos obtenidos fueron el diámetro del círculo del gránulo de secreción y del lisosoma, y el diámetro mayor y menor de la elipse para las mitocondrias.

El tratamiento estadístico realizado ha consistido en la construcción de intervalos confi-

denciales para la comparación de los parámetros que se estudian en las distintas poblaciones que se incluyen en nuestro análisis (entre machos y hembras, y entre células). Los I.C. que se construyen para nuestro trabajo se ha prefijado el nivel de confianza en el 95% ($X=0.05$).

OBSERVACIONES

Estudio estructural

Las células «opiocorticomelanotropas» de los cabritos, presentes entre el 16-18%, son PAS positivas (fig. 2), Azul Alcian débilmente positivas (fig. 4) y con el tetracromo de Herlant toman una coloración rosa grisácea. Aparecen distribuidas por toda la «pars distalis»; en corte sagital (fig. 5) ocupan la mitad superior de la glándula, quedando libre la porción vascular o «zona del sexo» y, en corte transversal (fig. 6), presentan una distribución homogénea.

La forma celular es diversa, de ovals a alargadas e irregulares, siendo la forma oval la más numerosa. Están generalmente aisladas y rara vez agrupadas en acinos (figs. 7, 11); su tamaño medio estimado es de 13'84 μm en los machos y de 14'73 μm en las hembras (cuadro 1), llegando a medir hasta 25'9 μm y 26'2 μm , respectivamente.

El núcleo es esférico u ovoideo, con unas dimensiones medias de 7'35 μm en los machos y 7'69 μm en las hembras (cuadro 1), pudiendo alcanzar tamaños de hasta 11'7 μm en los primeros y 15'5 μm en las segundas; a veces está desplazado y presenta invaginaciones (fig. 8). Su nucléolo es pequeño y la cromatina está distribuida homogéneamente a modo de finos grumos.

El citoplasma da una inmunorreacción homogénea y fuerte, y a veces presenta una gran

CUADRO 1
DIÁMETROS MEDIOS Y ESTADÍSTICOS DEL CITOPLASMA Y NÚCLEO DE LAS CÉLULAS ACTH DE CABRITOS (MACHOS Y HEMBRAS) EN μm

ESTADÍSTICOS	MEDIA	DESVIACIÓN TÍPICA. S.	COEF. VARIAC.	ERROR MEDIA	INTERVALO CONFIDENCIAL
Cito	13.84	2.44	17.65	0.11	13.62-14.06
Cél. ACTH Macho					
Núcleo	7.35	1.22	16.71	0.05	7.24- 7.46
Cito	14.73	2.28	15.52	0.90	14.53-14.92
Cél. ACTH Hembra					
Núcleo	7.69	1.20	15.62	0.05	7.59- 7.79

CUADRO 2
DATOS ESTADÍSTICOS DE LOS GRÁNULOS DE SECRECIÓN DE LAS CÉLULAS ACTH DE CABRITOS (MACHOS Y HEMBRAS) EN μm

ESTADÍSTICOS	MEDIA	DESVIACIÓN TÍPICA. S.	COEF. VARIAC.	ERROR MEDIA	INTERVALO CONFIDENCIAL
Macho	0.293	0.065	22.316	0.0034	0.286-0.300
Cél. ACTH Hembra	0.308	0.063	20.667	0.0034	0.302-0.315

vacuola clara central que corresponde al complejo de Golgi.

Estudio ultraestructural

Son células de gran tamaño y forma variable, ovales o poligonales y con prolongaciones citoplasmáticas que se introducen entre las células vecinas, frecuentemente entre las TSH, a las que se unen mediante desmosomas.

El núcleo presenta también gran tamaño, está desplazado y es de forma esférica u ovoide, aunque a veces se observan escasas pero profundas invaginaciones. Por su poca cantidad de heterocromatina, tiene un aspecto claro, disponiéndose ésta en pequeños acúmulos dispersos. El nucléolo es de pequeño tamaño, excéntrico y unido a la envoltura nuclear (fig. 12).

Atendiendo al número y disposición de los gránulos de secreción, retículo endoplásmico granular y complejo de Golgi, hemos clasificado las células productoras de adrenocorticotropina en tres tipos:

Células ACTH tipo I

Dentro de este grupo se encuentran aquellas células que se caracterizan por la escasa cantidad de gránulos de secreción, los cuales se disponen en la periferia celular, en una o dos filas paralelas a la membrana citoplasmática, a veces entre cisternas paralelas de retículo endoplásmico y en las prolongaciones citoplasmáticas (fig. 13).

El tamaño medio estimado de los gránulos,

es de 293 μm en los machos y de 318 μm en las hembras (figs. 24, 25, cuadro 2), donde el 94'93% se encuentran entre 175-414 nm y en el 5'08% entre 414-574 nm, para los primeros y para los segundos el 96'13% está entre 195-421 nm y el 3'8% entre 421-534 nm. Son en su mayoría esféricos, fuertemente electrodensos y excepcionalmente se puede observar un halo claro; también hemos encontrado un segundo tipo granular de menor electrodensidad que aparece con poca frecuencia.

El retículo endoplásmico se encuentra enormemente desarrollado, ocupando prácticamente la totalidad del citoplasma. Está constituido por cisternas aplanadas con gran cantidad de ribosomas adheridos a sus membranas, que toman una disposición concéntrica espiral o huella dactilar, o en cisternas paralelas a la membrana citoplásmica, pudiéndose encontrar entre ellas gránulos de secreción (figs. 14, 15).

El complejo de Golgi, no siempre visible, presenta un desarrollo moderado (fig. 15).

Las mitocondrias, al igual que en los otros dos tipos celulares, son muy abundantes, de forma ovalada, redondeada o alargada y, a veces, ondulada, con un tamaño medio de 0'3×0'8 μm , pudiendo llegar a medir hasta 4'65×0'65 μm y una matriz muy electrodensa. Se encuentran dispersas por todo el citoplasma, siendo especialmente abundantes en las proximidades del núcleo (fig. 16).

Células ACTH tipo II

Estas células se caracterizan por la gran can-

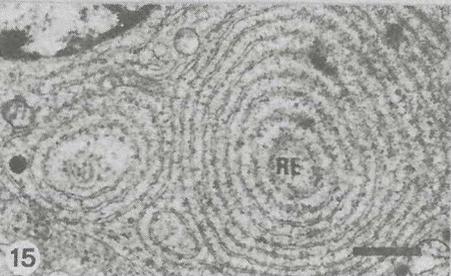
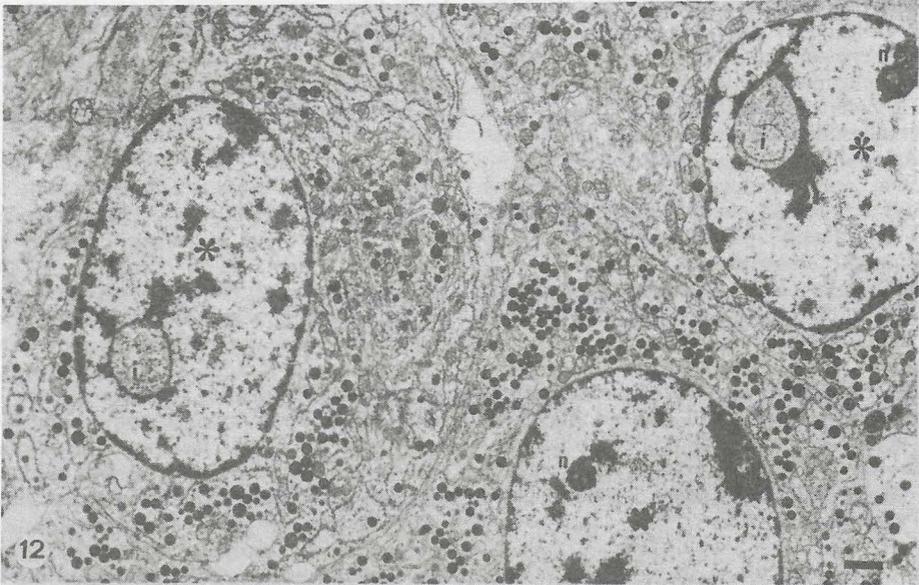
FIGURA 12. Panorámica de células ACTH (asterisco) presentando sus núcleos con invaginaciones (i) y nucléolo pequeño desplazado y a veces unido a la envoltura nuclear (n). Barra= 1 μm .

FIGURA 13. Célula ACTH tipo I (I) con escasos gránulos de secreción y abundancia de retículo endoplásmico granular (RE) dispuesto en estratificación concéntrica. Barra = 1 μm .

FIGURA 14. Célula ACTH tipo I (I) con escasos gránulos de secreción en la periferia celular y abundancia de retículo endoplásmico granular (RE). El complejo de Golgi se presenta poco desarrollado (G). Barra= 1 μm .

FIGURA 15. Detalle de la fig. 57. RE= retículo endoplásmico granular. Barra= 1 μm .

FIGURA 16. Detalle retículo endoplásmico granular (RE) y mitocondrias (m). Barra= 1 μm .



tividad de imágenes de formación y empaquetamiento de gránulos de secreción por el complejo de Golgi. Los gránulos se presentan en mayor número que en el tipo I, dispersos por todo el citoplasma aunque en mayor concentración en la zona del Golgi (figs. 17, 18).

El retículo endoplásmico granular, no tan desarrollado como en el tipo anterior, mantiene su disposición, aunque con las cisternas menos apretadas; a veces se pueden encontrar cortas cisternas ligeramente dilatadas y de contenido moderadamente electrodensos.

El complejo de Golgi está bien desarrollado, disponiéndose en dos, tres o más complejos que rodean al núcleo o bien ocupan un gran área yuxtannuclear. Está constituido por cinco o más sáculos dilatados y de contenido adielectrónico, destacando la gran cantidad de vesículas próximas a la cara de formación, así como las imágenes de formación de gránulos de secreción por la coalescencia de pequeñas vesículas en la cara de maduración.

Células ACTH tipo III

Son células de almacenamiento. Los gránulos de secreción se encuentran ocupando la totalidad del citoplasma, excepto el polo ocupado por el núcleo, y tienen un escaso desarrollo del sistema vacuolar citoplasmático (fig. 19).

Con frecuencia observamos vacuolas, cuerpos multivesiculares (fig. 20), cilios (fig. 21) y desmosomas en los tres tipos celulares (figs. 22, 23).

DISCUSIÓN

Las células «opiocórticomelanotropas» de la adenohipófisis de cabritos son PAS positivas y Azul Alcian débilmente positivas, aunque en la mayoría de las especies estudiadas son Azul Alcian negativas, y PAS negativas según BLANCO (1973) en el cerdo y MOLINA (1984) en corderos. Con el tetracromo de Herlant toman una coloración rosa grisácea al captar la eritrosina como ya observara RACADOT (1963) en la oveja.

En corte sagital ocupan la mitad superior de la glándula, dejando libre la porción vascular o «zona del sexo», mientras que en corte transversal presentan una distribución uniforme por toda la adenohipófisis. Esta distribución coincide, en general, con la descrita en la bibliografía consultada.

Las células ACTH se encuentran entre las más abundantes de la adenohipófisis de los cabritos (16-18%). Estas cifras están entre las más altas halladas en la literatura, como es el 30% de GIROD (1984) en el hombre y el 15% de NAKAMURA et al. (1986) en la liebre silbadora. Sin embargo, para la mayoría de los autores, se presentan en escaso número, estando comprendidas entre el 2 y el 5% en las distintas especies estudiadas. Asimismo, tampoco hemos observado diferencias entre machos y hembras.

En relación con la forma de las células, hemos de decir que frecuentemente es de oval alargada o irregular, siendo muy escasas o no observándose las típicas formas estrelladas con prolongaciones citoplásmicas intercaladas entre células vecinas, tan frecuentes en la rata según MOZOS (1984) KUROSUMI et al. (1984), TANAKA y KUROSUMI (1986). Sin embargo sí ha sido posible con el microscopio electrónico apreciar la existencia de prolongaciones citoplasmáticas separando células vecinas, generalmente TSH, con las que presentan puntos de unión.

Estas células, como en la mayoría de las especies, son las células de mayor tamaño de la adenohipófisis. Además hemos encontrado diferencias significativas entre machos y hembras, siendo más grandes en las últimas. El núcleo es igualmente excéntrico y con abundante eucromatina y a veces pueden observarse profundas invaginaciones de la envoltura nuclear parecidas a las descritas por DACHEUX (1984) en el cerdo.

Los gránulos de secreción son de 293 nm de diámetro en los machos y de 318 nm en las hembras, siendo estas medidas superiores a las dadas por SHIRASAWA et al. (1985) en la cabra adulta y similares a las descritas por BLANCO (1973) en el cerdo y GIROD (1984) en el hombre; también, como estos mismos autores, hemos observado dos tipos de gránulos: unos más

FIGURA 17. Célula ACTH tipo II (II) con gran desarrollo del complejo de Golgi (G) y con imágenes de formación de gránulos. Barra= 1 μ m.

FIGURA 18. Detalle de la fig. 61. G= complejo de Golgi, m= mitocondrias. Barra= 1 μ m.

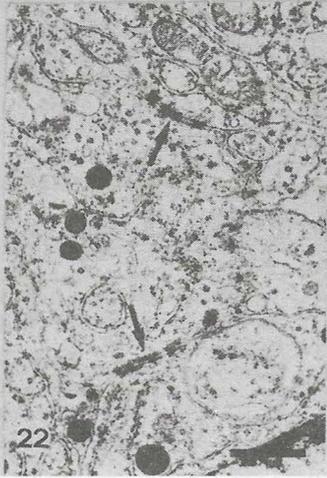
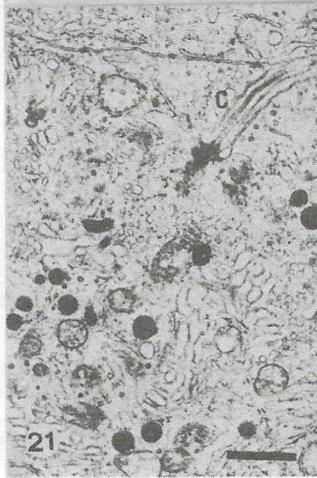
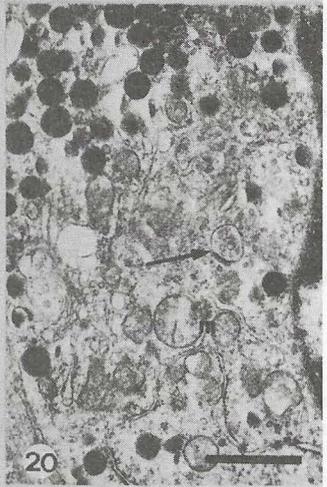
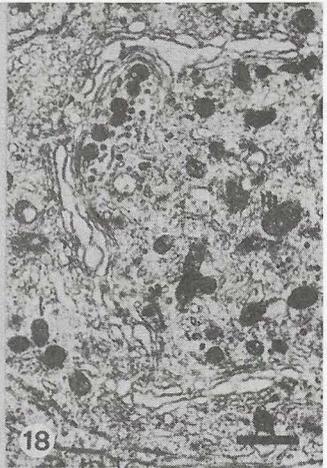
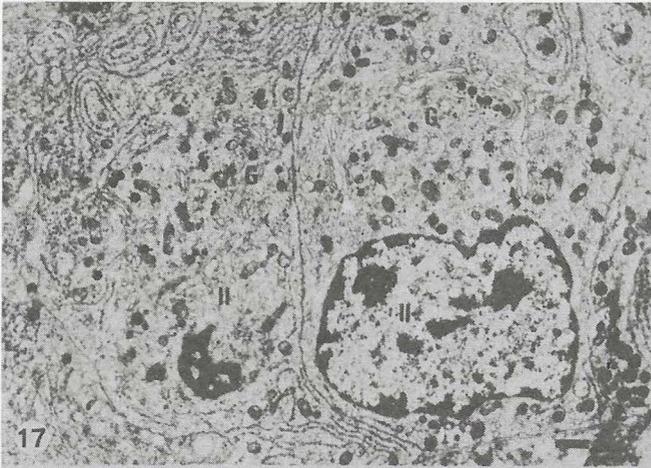
FIGURA 19. Célula ACTH tipo III (III) con gran abundancia de gránulos de secreción distribuidos por todo el citoplasma. Barra= 1 μ m.

FIGURA 20. Detalle de la figura 63. Flecha= cuerpos multivesiculares, m= mitocondrias. Barra= 1 μ m.

FIGURA 21. Cilio (C). Barra= 1 μ m.

FIGURA 22. Uniones entre células ACTH (flechas). Barra= 1 μ m.

FIGURA 23. Uniones entre células ACTH y PRL (flechas). Barra= 1 μ m.



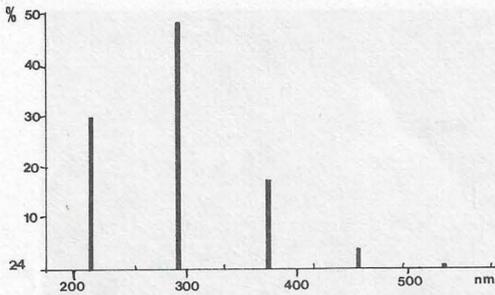


FIGURA 24. Distribución de frecuencias muestral de los gránulos de secreción de células ACTH de cabritos.

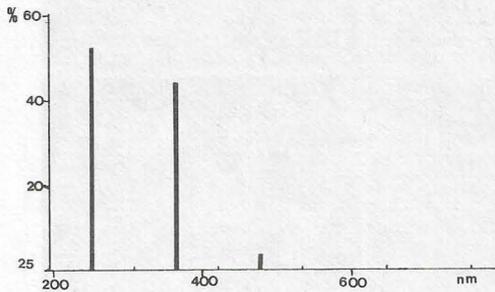


FIGURA 25. Distribución de frecuencias muestral de los gránulos de secreción de células ACTH de hembras.

numerosos, de mayor tamaño y más electrodenso; y otros más escasos, pequeños y de menor electrodensidad. MIKAMI (1970) describe en bóvidos la presencia de un halo periférico en los gránulos más pequeños, halo que ha sido raramente observado por nosotros, por lo que estamos de acuerdo con SIPERSTEIN y MILLER (1970), quienes afirman que esta característica no es típica de este tipo celular, y con KUROSUMI y KOBAYASHI (1966) quienes consideran que la presencia de este halo es un artefacto producido por la fijación empleada.

Atendiendo a su estado funcional, las células ACTH son susceptibles de sufrir variaciones morfológicas, lo que da lugar a una clasificación en tipos y que, en líneas generales, coincide con las descritas por YOSHIMURA y NOGAMI (1981) y KUROSUMI et al. (1984) en la rata y por DACHEUX (1981) en el cerdo. Nosotros vamos a considerar tres tipos.

La célula ACTH tipo I de los cabritos se corresponde con el tipo 1 de YOSHIMURA y NOGAMI (1981) y KUROSUMI et al. (1984) en la rata y con el tipo 2 de DACHEUX (1981) en el cerdo. Estas células presentan la típica morfo-

logía de las células ACTH descrita en la mayoría de las especies. Son células con escasa cantidad de gránulos de secreción, que se disponen en la periferia de la célula próximos a la membrana celular, así como en las prolongaciones citoplásmicas. Presentan gran desarrollo del retículo endoplásmico granular que ocupa casi todo el citoplasma en forma de cisternas dispuestas en espiral o paralelamente, pudiendo observarse entre ellas gránulos de secreción. El complejo de Golgi tiene poco desarrollo y las mitocondrias, muy abundantes, presentan la forma y características descritas en la literatura. Finalmente, existen cuerpos multivesiculares similares a los descritos por KUROSUMI y KOBAYASHI (1966) y SEINSCH y ROMMLER (1978).

Las células ACTH tipo II se corresponden con los tipos III y IV de YOSHIMURA y NOGAMI (1981) y con el intermedio de KUROSUMI et al. (1984) en la rata, y con el tipo 3 de DACHEUX (1981) en el cerdo. Estas células se caracterizan por la mayor abundancia de gránulos de secreción y el mayor desarrollo del complejo de Golgi, constituido por varias unidades dispuestas yuxtanclearmente, formadas por dos o más sacos dilatados de contenido adielectrónico y abundantes vesículas adosadas, y donde es frecuente observar imágenes de formación de gránulos de secreción por coalescencia de vesículas de menor tamaño. El retículo endoplásmico granular, aunque menos desarrollado, presenta una disposición similar a la vista en el tipo I.

Las células ACTH tipo III, se corresponden con los tipos IV de YOSHIMURA y NOGAMI (1981) y II o «células atípicas» de KUROSUMI et al. (1984) en la rata y con el tipo 1 de DACHEUX (1981) en el cerdo. Son células de «almacenamiento», en las que los gránulos de secreción son muy abundantes por todo el citoplasma. Los demás organoides citoplásmicos se encuentran escasamente desarrollados.

BIBLIOGRAFÍA

- BAKER, B. L. 1977: Cellular composition of the human pituitary pars tuberalis as revealed by immunocytochemistry. *Cell Tissue Res.* 182: 151-163.
- BLANCO, A. 1973: Estructura y ultraestructura de la adenohipófisis del cerdo. *Arch. Zootec.* 22: 103-138.
- CHILDS, G. V.; ELLISON, D. G. 1980: A critique of the contributions of immunoperoxidase cytochemistry to our understanding of pituitary cell function, as illustrated by our current studies of gonadotropes, corticotropes and endogenous pituitary GnRH and TRH. *Histochem. J.* 12: 405-418.
- DACHEUX, F. 1981: Evidence for FSH-like material in ACTH granules of certain corticotropic cells in the

- pituitary of the pig. *Cell Tissue Res.* 217: 497-503.
- 1984: Functional differentiation of the anterior pituitary cells in the fetal pig. An ultrastructural immunocytochemical study. *Cell Tissue Res.* 235: 623-633.
- ESTIVARIZ, E. F.; ITURRIZA, C. F.; HOPE, J.; LOWRY, J. P. 1982: Immunohistochemical demonstration of pro- γ -MSH-like substances in the pituitary gland of various vertebrate species. *Gen. Comp. End.* 46: 1-6.
- GABE, M. 1968: *Techniques histologiques.* Masson, Paris.
- GIROD, C. 1983: Immunocytochemistry of the vertebrate adenohypophysis. En: *Handbuch der Histochemie*, vol. VIII supp 5 (W. Graumann und K. Neumann). Gustav Fisher, Stuttgart.
- 1984: Fine structure of the pituitary pars distalis. En: *ultrastructure of endocrine cell and tissues* (ed. P. M. Motta), pp. 12-28. Martinus Nijhoff, Boston.
- HERLANT, M. 1960: Etude critique de deux techniques nouvelles destinée a mettre en évidence les différentes catégories cellulaires présentes dans la glande pituitaire. *Bull. Micr. Appl.* 10: 37-44.
- KUROSUMI, K.; KOBAYASHI, Y. 1966: Corticotrophs in the anterior pituitary glands of normal and adrenalectomized rats as revealed by electron microscopy. *Endocrinology* 78: 745-758.
- KUROSUMI, K.; TANIGUCHI, Y.; INOUE, K. 1984: Electron microscopic immunocytochemistry by the protein A-gold method of two types of rat anterior pituitary ACTH cells. *Arch. Histol. Jpn.* 47: 279-291.
- MIKAMI, S. 1970: Light and electron microscopic investigations of six types of glandular cells of the bovine adenohypophysis. *Z. Zellforsch.* 105: 457-482.
- MOLINA, M. 1984: Estudio histológico de las células TSH, STH, ACTH y LTH de la adenohipófisis de corderos de raza «merina» tratados con estradiol y acetato de trembolona. INIA, Anal. Ser. Ganad. 20: 27-55.
- MOZOS, E. 1983: Contribución al estudio histológico de la adenohipófisis, tiroides y adrenales, en procesos de shock provocado por infección experimental con *E. Coli*. Tesis Doctoral, Córdoba.
- NAKAMURA, F.; SUZUKI, Y.; YOSHIMURA, F. 1986: Immunohistochemical and ultrastructural study of anterior pituitary cells in the female afghan pika, *Ochotona rufescens rufescens*. *Cell Tissue Res.* 244: 627-633.
- RACADOT, J. 1963: Modifications cytologiques du lobe antérieur de l'hypophyse de la brebis au cours du post-partum. *R. C. Soc. Biol. (Paris)* 157: 729-732.
- REYNOLDS, E. S. 1963: The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 17: 209.
- SABATINI, D. D.; BENSCH, K.; BARNETT, R. J. 1962: New means of fixation for electron microscopy and histochemistry. *Anat. Rec.* 142: 274.
- SEINSCH, W.; ROMMLER, A. 1978: Ultrastructural classification of the three different rat gonadotrophs after LH-RH stimulation *Zbl. Vet. Med. C. Anat. Histol. Embryol.* 7: 300-310.
- SHIRASAWA, N.; KIHARA, H.; YOSHIMURA, F. 1985: Fine structural and immunohistochemical studies of goats adenohypophysial cells. *Cell Tissue Res.* 240: 315-321.
- SIPERSTEIN, E. R.; MILLER, K. J. 1970: Further cytophysiologic evidence for the identity of the cells that produce adrenocorticotrophic hormone. *Endocrinology* 86: 451-486.
- STENBERGER, L. A. 1974: *Immunocytochemistry.* Wiley Medical. New York.
- TANAKA, S.; KUROSUMI, K. 1986: Differential subcellular localization of ACTH and α -MSH in corticotropes of the rat anterior pituitary. *Cell Tissue Res.* 243: 229-238.
- WANSON, J. C.; DROCHMAN, P. 1968: Epoxi technique inclusion for electron microscopy. *Cell Biol.* 38: 130.
- YOSHIMURA, F.; NOGAMI, H. 1981: Fine structural criteria for identifying rat corticotrophs. *Cell Tissue Res.* 21: 221-228.