

## ESTUDIO ESTRUCTURAL, INMUNOCITOQUÍMICO Y ULTRAESTRUCTURAL DE LAS CÉLULAS FOLÍCULO- ESTRELLADAS Y CAVIDADES FOLICULARES DEL CORDERO (*OVIS ARIES L.*)

**Structural, immunocytochemical and ultrastructural study of folliculo-  
stellate cells and follicular cavities of lamb (*Ovis aries L.*)**

**Gómez, S.; Bernabé, A.; Gómez, M.A.; Navarro, J.A.; Sánchez, J.**

Histología y Anatomía Patológica. Departamento Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Murcia. Apto. Correos 4021. 30071 Murcia.

Recibido: 9 Noviembre 1992

Aceptado: 20 Enero 1993

### RESUMEN

Se describe la estructura y ultraestructura de las células folículo-estrelladas de la *Pars distalis* adenohipofisaria de 12 corderos de raza Segureña (6 machos y 6 hembras), de 3 meses de edad y 24 Kg de peso vivo. Se ha utilizado la técnica inmunocitoquímica del complejo avidina- biotina (ABC), con suero anti-proteína S-100 bovina y microscopía electrónica. Las células folículo-estrelladas se marcan específicamente con el suero anti-proteína S-100 y se distribuyen por toda la glándula, en una proporción del 20-30% del total de células adenohipofisarias. Ultraestructuralmente, se caracterizan por carecer de gránulos de secreción y presentar escasos organoides citoplasmáticos. Cuando participan en la formación de cavidades, tienen abundantes cisternas de retículo endoplásmico liso, microvellosidades y cilios en el polo apical. La luz de la cavidad folicular es angosta, de contenido escaso o nulo en la mayoría de los casos.

*Palabras clave:* células folículo-estrelladas, cavidades foliculares, inmunocitoquímica, Proteína S-100, ultraestructura, adenohipófisis, cordero.

### ABSTRACT

We have studied the structure and ultrastructure of adenohipophyseal folliculo-stellate cells of 6 males and 6 females of sheep belonging to the Segureña breed, aged 3 months and weighing 24 kg. Immunocytochemical technique (ABC) with serum against bovine S-100 protein bovine serum and electron microscopy were utilized. Folliculo-stellate cells are evenly distributed through the whole gland, making up 20-30% of all cells. These cells are specifically labelled with S-100 anti-protein bovine serum. These cells lack secretory granules and show few organelles. When they form cavities show a

large amount of agranular endoplasmic reticulum, microvilli and cilia in the apical pole. The light of the follicular cavity is narrow and with scarce content or without it at all.

*Key words:* folliculo-stellate cells, follicular cavities, immunocytochemical, S-100 protein, ultrastructure, adenohypophysis, lamb.

## INTRODUCCIÓN

Las células folículo-estrelladas (KAGAYAMA 1965), estrelladas (GIROD *et al.* 1985) o agranulares peculiares (DINGEMANS y FELTKAMP 1972) forman una trama o red que se distribuye por toda la *Pars distalis* (YOSHIMURA *et al.* 1977; VILA-PORCILE 1979; GIROD y LHERITIER 1986) y, a veces, folículos o cavidades foliculares (VILA-PORCILE 1979; SHIRASAWA *et al.*; 1984; GÓMEZ *et al.* 1988; NAVARRO *et al.* 1988). Para su diferenciación se utiliza la proteína S-100 en la rata (COCCHIA y MIANI 1980; NAKAJIMA *et al.* 1980; SHIRASAWA *et al.* 1984), hombre (GIROD *et al.* 1986) y monos (GIROD *et al.* 1986). En la cabra no aparecen inmunoteñidas (SHIRASAWA *et al.* 1984), por lo que se considera un marcador inespecífico para las células folículo-estrelladas, excepto en la rata (SHIRASAWA *et al.* 1988a). Ultraestructuralmente, las células folículo-estrelladas se caracterizan por el escaso desarrollo de sus organoides citoplasmáticos (KAGAYAMA 1965; VILA-PORCILE 1979; GIROD y LHERITIER 1986). Algunos autores han reseñado el hallazgo de granulaciones en su citoplasma (KAGAYAMA 1965; von LAWZEVITSCH *et al.* 1972; NAGATA *et al.* 1980; SHIRASAWA *et al.* 1984, 1988b).

La función de estas células no se conoce bien. VILA-PORCILE y OLIVIER (1984) señalan las posibles funciones de las células folículo-estrelladas: a) soporte, b) síntesis de membranas basales, c) fagocitosis y pinocitosis, y d) transporte de sustancias.

El presente trabajo trata de evidenciar las características estructurales y ultraestructurales de las células folículo-estrelladas de corderos machos y hembras, mediante técnicas inmunocitoquímicas y microscopía electrónica.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se han utilizado adenohipófisis de 12 corde-ros, machos (6) y hembras (6), de raza Segureña,

con un peso vivo de 24 kgs. La metodología utilizada es similar a la de GÓMEZ *et al.* (1992), si bien se aplicó en microscopía óptica la técnica avidina-biotina peroxidasa (ABC) (HSU y RAINE 1981) en secciones adyacentes, de forma alternativa, con suero anti-proteína S-100 bovina y sueros anti-GH humana, anti-PRL humana, anti-ACTH humana, anti-FSH humana, anti-LH humana o anti-TSH humana (DAKO).

Las diluciones y tiempos de incubación de los distintos antisueros primarios fueron: Cuadro 1.

## RESULTADOS

Las células folículo-estrelladas se encuentran en una proporción de 20-30% del total de células adenohipofisarias. Se disponen a modo de red entre las células glandulares, tanto en la porción central del acino glandular como en la porción basal. Las localizadas en la zona central emiten finas prolongaciones citoplasmáticas que contactan con la membrana basal (Figuras 1, 9, 10). Se caracterizan por su escasa apetenencia por los colorantes y muestran inmunorreacción positiva con el suero anti-proteína S-100 (Figuras 1-8). No existe inmunorreacción cruzada con el resto de células adenohipofisarias (Figuras 2-8).

El citoplasma presenta escaso desarrollo de sus organoides, en un hialoplasma de baja densidad electrónica (Figura 10). El retículo endoplásmico granular se dispone a modo de pequeñas cisternas, a veces ligeramente dilatadas y comunicadas entre sí, siendo poco frecuente observar su continuidad con la envoltura nuclear. El complejo de Golgi es pequeño, de ubicación yuxtannuclear, constituido en ocasiones por dos unidades. Las mitocondrias se encuentran distribuidas por todo el citoplasma. Son pequeñas, alargadas, estrechas, con matriz electrodensa y crestas perpendiculares a su eje mayor.

Los lisosomas, microfilamentos, cuerpos multivesiculares y gotas lipídicas son escasos. No se

| ANTISUERO                  | DILUCIÓN | TIEMPO DE INCUBACIÓN                     |
|----------------------------|----------|--|
| Anti-Proteína S-100 bovina | 1:250    | 4 horas T° ambiente.                     |
| Anti-PRL humana            | 1:250    | 3 horas T° ambiente.                     |
| Anti-GH humana             | 1:250    | 12 horas T° ambiente.<br>24 horas a 4°C. |
| Anti-ACTH humana           | 1:250    | 3 horas T° ambiente.                     |
| Anti-FSH humana            | 1:250    | 3 horas T° ambiente.                     |
|                            | 1:500    | 4 horas T° ambiente.                     |
| Anti-LH humana             | 1:250    | 3 horas T° ambiente.                     |
|                            | 1:500    | 4 horas T° ambiente.                     |
| Anti-TSH humana            | 1:250    | 3 horas T° ambiente.                     |
|                            | 1:500    | 4 horas T° ambiente.                     |

CUADRO 1. Se aplicaron los controles inmunocitoquímicos recomendados por CHILDS y ELLISON (1980), siendo negativos en todos los casos.

han encontrado gránulos de secreción en el citoplasma de las células folículo-estrelladas.

En ocasiones, las células folículo-estrelladas se disponen formando cavidades, que pueden o no contener material PAS positivo en escasa cantidad. Las cavidades foliculares, con una luz central estrecha, están limitadas por un número variable de células folículo-estrelladas (3-6), con o sin microvellosidades y escaso número de cilios (9+2). En el citoplasma apical existe abundante retículo endoplásmico liso, dispuesto en cortos túbulos de moderada electrodensidad. Lateral y apicalmente, las células folículo-estrelladas presentan zonulas ocludens, zonulas adherens y desmosomas (Figura 11), así como un "laberinto" de interdigitaciones. Limitan basal y lateralmente con las células granulares. Esto hace que las células productoras de hormona no se relacionen con la luz folicular. En la porción basal aparecen prolongaciones citoplasmáticas que contactan con la membrana basal. Según la orientación del corte, pueden observarse células foliculares formando un grupo compacto y otras "supuestas" cavidades intracelulares ocluidas por microvellosidades (Figura 12).

## DISCUSIÓN

La aplicación de suero anti-proteína S-100 con objeto de detectar la inmunorreactividad de esta

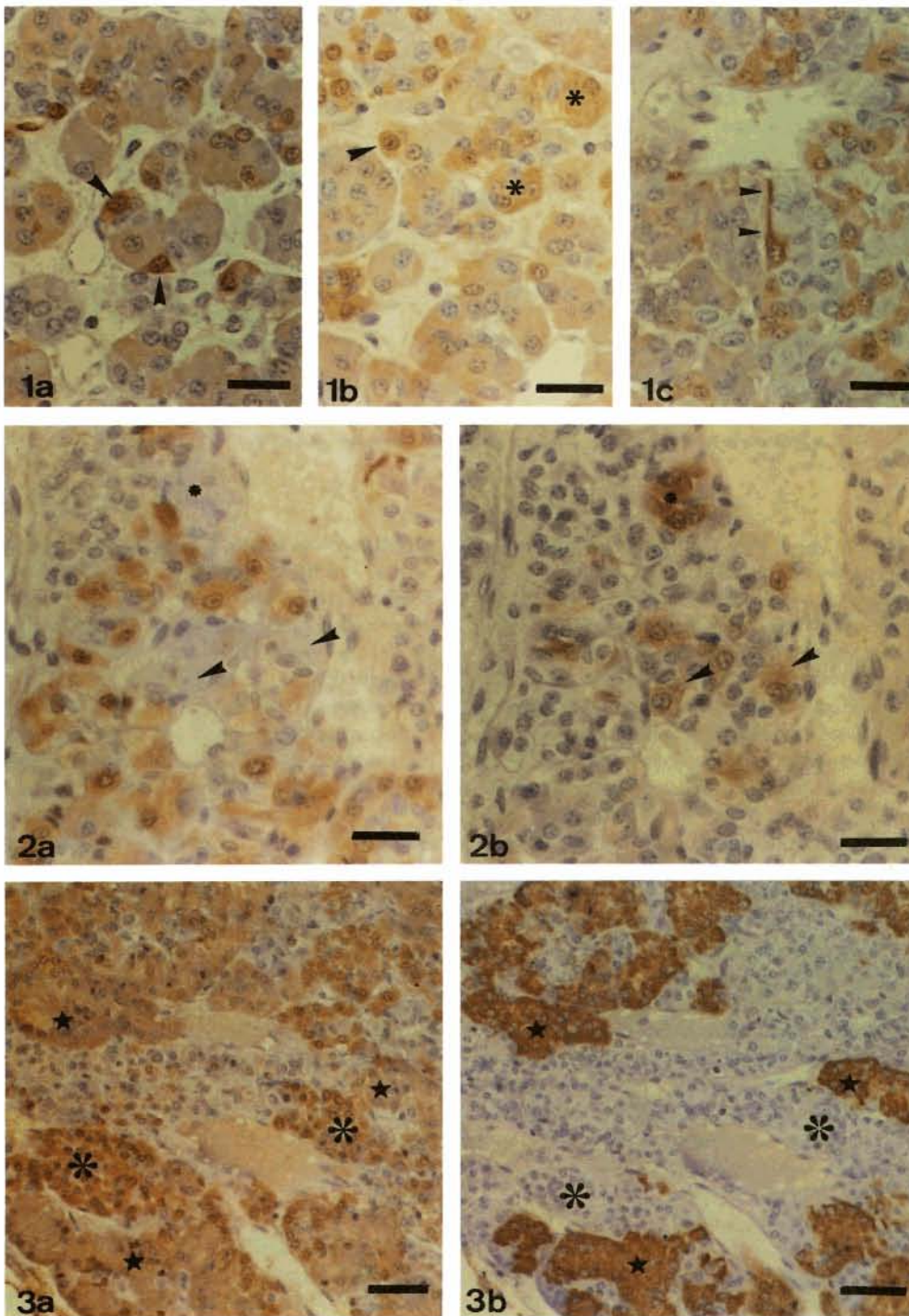
proteína en las células folículo-estrelladas parece aportar resultados constantes en la rata, mono y hombre (SHIRASAWA *et al.* 1988a). Igualmente, las células folículo-estrelladas de la adenohipófisis del cordero manifiestan reacción uniforme y constante cuando se aplica el método ABC en la demostración de la proteína S-100, no existiendo inmunorreacción cruzada con otros tipos celulares a diferencia de lo descrito por SHIRASAWA *et al.* (1984) para las células GH en la cabra.

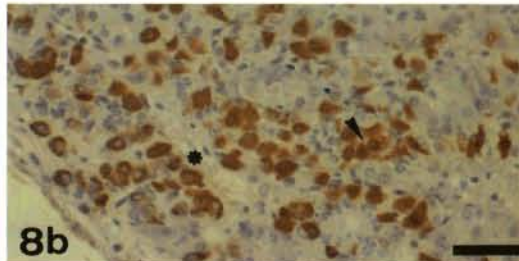
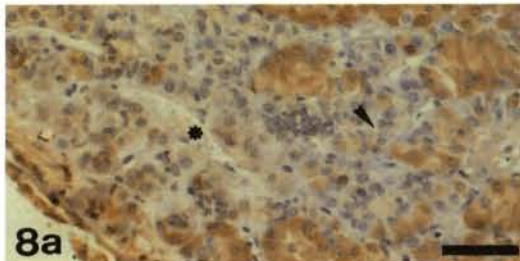
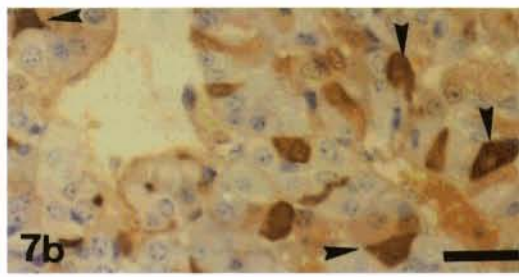
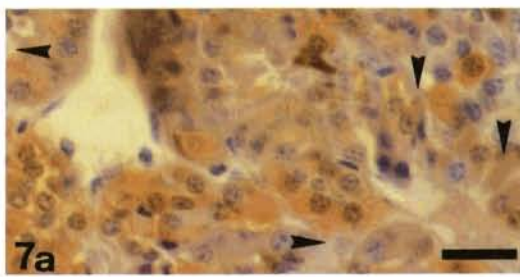
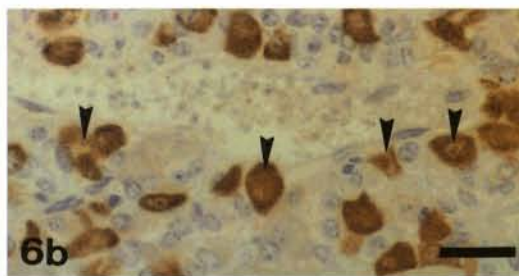
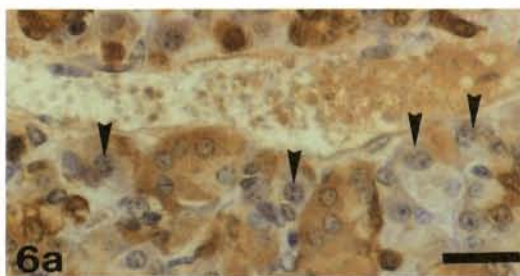
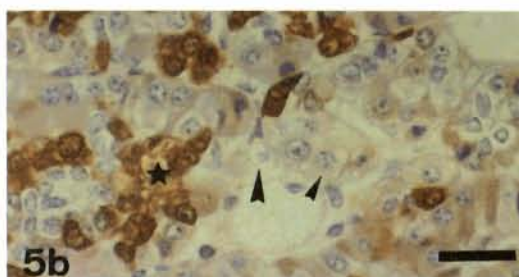
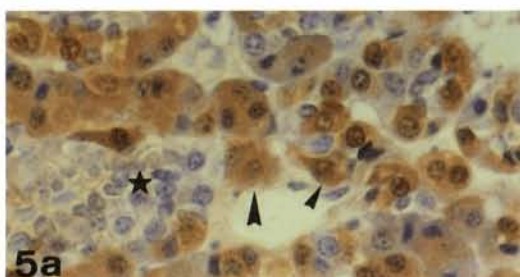
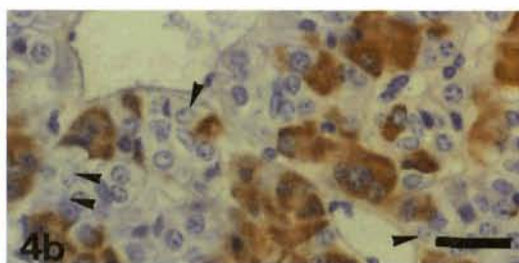
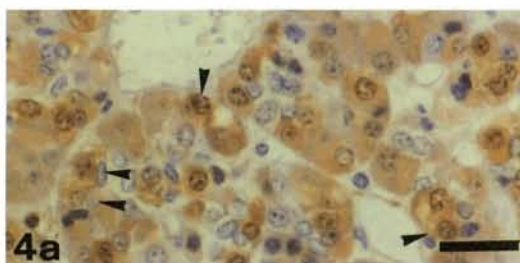
Las células folículo-estrelladas tienen una disposición reticular, a veces folicular, y están distribuidas por toda la *Pars distalis*, al igual que en el resto de las especies estudiadas (VILAPORCILE y OLIVIER 1984).

Las características morfológicas y ultraestructurales son las propias de células con escasa actividad. Sin embargo, cuando se reúnen formando cavidades, aparece abundante retículo endoplásmico liso en el polo apical, como describen NAGATA *et al.* (1980) y GIROD y LHERITIER (1981, 1986). Se observan nexos de unión con las células glandulares (HEATH 1970; KRISK y DUCHEIM 1984; SHIRASAWA *et al.* 1984, 1988b).

Los lisosomas y microfilamentos son escasos, como señalan SHIRASAWA *et al.* (1984) en la cabra, a diferencia de lo observado en algunos roedores (YOUNG 1977; GIROD y LHERITIER









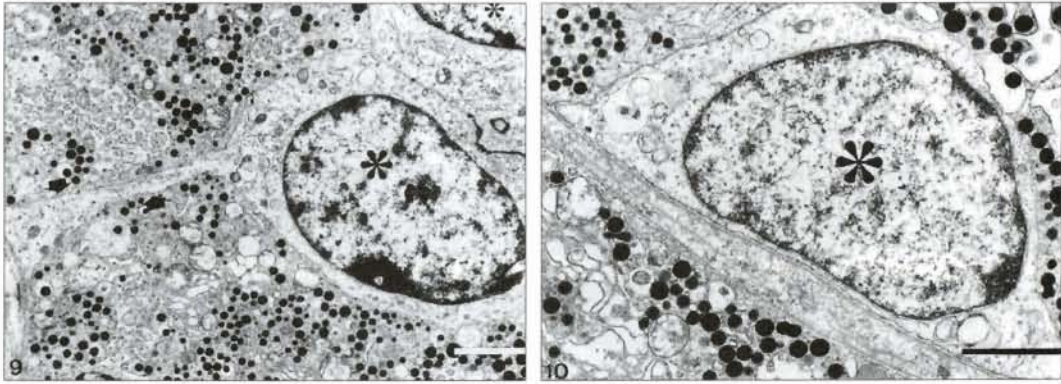


FIGURA 1a,b,c.- Células inmunomarcadas con suero anti-proteína S-100 localizadas en las porciones basales (a) de los acinos glandulares (flechas), aisladas (b) o en pequeños grupos en el centro de los acinos glandulares, con prolongaciones citoplasmáticas (c) entre las células glandulares que llegan a contactar con los vasos (flechas). ABC. Barra= 25  $\mu$ m.

FIGURA 2a,b.- Cortes adyacentes inmunomarcados con suero anti-proteína S-100 (a) y suero anti-GHh (b). Las células GH aisladas (flechas) o en acinos (asterisco) no inmunoreaccionan con el suero anti-proteína S-100. ABC. Barra= 25  $\mu$ m.

FIGURA 3a,b.- Cortes adyacentes inmunomarcados con suero anti-proteína S-100 (a) y suero anti-PRLh (b). Las células PRL (estrellas) no presentan inmunorreacción frente al suero anti-proteína S-100 (asteriscos). Porción anterior. ABC. Barra= 100  $\mu$ m.

FIGURA 4a,b.- Cortes adyacentes inmunomarcados con suero anti-proteína S-100 (a) y suero anti-PRLh (b). Las células folículoestrelladas (flechas) no presentan inmunorreacción frente al suero anti-PRLh. ABC. Barra= 25  $\mu$ m.

FIGURA 5a,b.- Corte inmunomarcados con suero anti-proteína S-100 (a), las células ACTH no se encuentran inmunomarcadas (estrellas). (b) Corte adyacente donde las células folículoestrelladas no aparecen inmunomarcadas con suero anti-ACTH (flechas). ABC. Barra= 25  $\mu$ m.

FIGURA 6a,b.- Cortes adyacentes inmunomarcados con suero anti-proteína S-100 (a) y suero anti-FSHh (b). Las células gonadotropas (flechas) no presentan inmunorreacción frente al suero anti-proteína S-100. ABC; Barra= 25  $\mu$ m.

FIGURA 7a,b.- Cortes adyacentes inmunomarcados con suero anti-proteína s-100 (a) y suero anti-LHh (b). Las células gonadotropas (flechas) no se encuentran inmunoteniadas con el suero anti-proteína S-100. ABC. Barra= 25  $\mu$ m.

FIGURA 8a,b.- Cortes adyacentes de la porción anterior de la glándula inmunomarcados con suero anti-proteína S-100 (a) y suero anti-TSHn (b). Las células TSH (flecha) no presentan inmunotinción frente al suero anti-proteína S-100. ABC; Barra= 50  $\mu$ m.

FIGURA 9;- Células foliculares (asteriscos) con prolongaciones citoplasmáticas entre las células glandulares (flechas) Barra= 2  $\mu$ m.

FIGURA 10.- Célula folículoestrellada sobre la membrana basal del acino glandular con escaso desarrollo de sus organoides citoplasmáticas. Barra= 2  $\mu$ m.

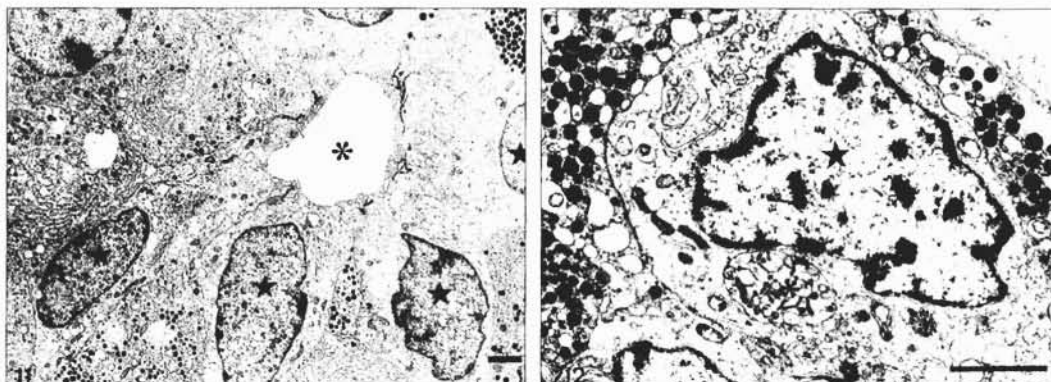


FIGURA 11.- Células foliculoestrelladas (estrellas) unidas apicalmente por bandas de cierre delimitando una cavidad folicular (asterisco) sin contenido aparente. Barra= 2  $\mu$ m.

FIGURA 12.- Célula foliculoestrellada con una estructura de localización yuxtannuclear que se asemeja a una cavidad intracelular (asterisco). Barra= 2  $\mu$ m.

1986; SHIOTANI 1980; VILA-PORCILE 1979). Las células foliculo-estrelladas de cordero carecen de gránulos de secreción, a diferencia de lo encontrado por NAGATA *et al.* (1980) y SHIRASAWA *et al.* (1984, 1988b).

Es patente la existencia de prolongaciones citoplasmáticas entre células glandulares vecinas, con las que no parecen mantener relación funcional, como indican GIROD y LHERITIER (1981, 1986) y GIROD *et al.* (1985). No se ha observado que dichas formaciones tengan una orientación determinada hacia los capilares, al contrario de lo sostenido por YOUNG *et al.* (1965), DINGEMANS y FELTKAMP (1972) y FARQUHAR *et al.* (1975). Este hecho parece obedecer, posiblemente, a un proceso de acomodación espacial.

Las características estructurales y ultraestructurales de las cavidades foliculares no se diferencian de las descritas por otros autores. Su morfología básica es similar en todas las especies estudiadas (VILA-PORCILE y OLIVIER 1984).

#### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Dr. A. Falagán (INIA) la ayuda prestada en la obtención de las muestras, a D. J. Sánchez la preparación de los cortes histológicos; a D. C. de Jódar su ayuda técnica; y al per-

sonal del Servicio de Microscopía Electrónica de la Universidad de Murcia por el apoyo técnico en la elaboración de la parte ultraestructural.

#### BIBLIOGRAFÍA

- DINGEMANS, K. P., FELTKAMP, C. A. 1972. Nongranulated cells in the mouse adenohypophysis. *Z. Zellforsch.* 124: 387-405.
- CHILDS, G., ELLISON, D. 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 an TRH. *Histochemical J.* 12: 405-418.
- COCCHIA, D., MIANI, N. 1980. Immunocytochemical localization of the brain specific S-100 protein in the pituitary gland of adult rat; *J: Neurocytology* 9: 771-782.
- FARQUHAR, M. G., SKUTELSKY, E. M., HOPKINS, C. R. 1975. Structure and function of the anterior pituitary and dispersed pituitary cells. In vitro studies. En.: *The Anterior Pituitary* pp 83-135. Eds.: TIXIER-VI-DAL A. y FARQUHAR, M. G. Academic Press, New York. 283 pp.
- GIROD, C., LHERITIER, M. 1981; Ultrastructure des cellules folliculostellaires de la *pars*

- distalis* de l'hypophyse chez le spermophile (*Citellus variegatus* Erxleben), le graphiure (*Graphiurus murinus* Desmaret) et le hérisson (*Erinaceus europaeus* Linnaeus). Gen. Comp. Endo. 43: 105-122.
- GIROD, C., TROUILLAS, J., DUBOIS, M. P. 1985. Immunocytochemical localization of S-100 protein in stellate cells (folliculo-stellate cells) of the anterior lobe of the normal human pituitary. Cell Tissue Res. 241: 505-511.
- GIROD, C., LHERITIER M. 1986. Ultrastructural observations on folliculostellate cells in the *Pars distalis* of the pituitary gland in three rodent species. Arch. Histol. Jap. 49: 1-12.
- GÓMEZ, M. A., NAVARRO, J.A., BERNABÉ, A., SÁNCHEZ, J., GÓMEZ, S., GÓMEZ, J.C. 1988. Estudio citológico y ultraestructural de la *Pars distalis* adenohipofisaria de cabritos (*Capra hircus*): Células foliculoestrelladas y cavidades foliculares. An. Vet. (Murcia) 4: 69-75.
- GÓMEZ, S., NAVARRO, J.A., SÁNCHEZ, J., GÓMEZ, M.A., BERNABÉ, A. 1992; Estudio estructural, inmunocitoquímico y ultraestructural de las células gonadotropas en corderos (*Ovis aries*). An. Vet. (Murcia).
- HEATH, E. 1970. Cytology of the pars anterior of the bovine adenohipophysis. Am. J. Anat. 127: 131-158.
- HSU, S.M., RAINE, L. 1981; Protein A, Avidin, and Biotin in immunohistochemistry. J. Histochem. Cytochem. 29: 1349-1353.
- KAGAYAMA, M. 1965. The follicular cell in the *Pars distalis* of the dog pituitary gland: An electron microscope study. Endocrinology 77:1053-1060.
- KRISCH, B., BUCHHEIM, W. 1984. Access and distribution of exogenous substances in the intercellular clefts of the rat adenohipophysis. Cell Tissue Res. 236: 439-452.
- NAGATA, M., MIZUNAGA, A., EMA, S., YOSHIMURA, F. 1980. Various types of the pituitary folliculo-stellate cells involving the Siperstein's corticotroph in the normal rats. Endocrinol. Japon. 27: 13-22.
- NAKAJIMA, T., YAMAGUCHI, H., TAKAHASHI, K. 1980. S-100 protein in folliculostellate cells of the rat pituitary anterior lobe. Brain Research 191: 523-531.
- NAVARRO, J.A., GÓMEZ, M.A., BERNABÉ, A., GÓMEZ, S., SÁNCHEZ, J., CARRASCO, L. 1988.. Modificaciones ultraestructurales de las células foliculoestrelladas y cavidades foliculares adenohipofisarias en cabras (*Capra hircus*) en anestro, gestación y producción lactea. An. Vet. (Murcia) 4: 63-67.
- SHIOTANI, Y. 1980. An electronmicroscopic study on stellate cells in the rabbit adenohipophysis under various endocrine conditions. Cell Tissue Res. 213: 237-246.
- SHIRASAWA, N., YAMAGUCHI, S., YOSHIMURA, F. 1984. Granulated folliculostellate cells and growth hormone cells immunostained with anti-S-100 protein serum in the pituitary glands of the goat; Cell Tissue Res. 237: 7-14.
- SHIRASAWA, N., MITSUI J., MERA, F., ISHIKAWA, H. 1988a. Comparative immunohistochemical study of the mammalian pituitary cells stained with antisera against S-100 protein and non-neuronal enolase. Biomed. Res. 9: 477-487.
- SHIRASAWA, N., ENOMOTO, H., HASEGAWA, S., ISHIKAWA, H. 1988b. Ultrastructural classification of follicular cells and their relation in bovine pituitary glands. Biomed. Res. 9:503-514.
- VILA-PORCILE, E. 1979; Le réseau des cellules folliculo-stellaires et les follicules de l'adenohipophyse du rat (*Pars distalis*). Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 129: 328-369.
- VILA-PORCILE, E., OLIVIER, L. 1984. The problem of the folliculo-stellate cells in pituitary gland. En: Ultrastructure of Endocrine cell and tissues pp 64-76. Ed.: MOTTA P.M. Martinus Nijhoff, Boston, 339 pp.
- VON LAWZEWITSCH, I., DICKMANN, G. H., AMEZUA, L., PARDAL, C. 1972. Cytological and ultrastructural characterization of the human pituitary. Acta Anat. 81: 286-316.
- YOSHIMURA, F., SOJI, T., KIGUCHI, Y. 1977. Relationship between the follicular cells and marginal layer cells of the anterior pituitary. Endocrinol. Japon. 24: 301-305.



YOUNG, B. A. 1977; Some observations on the ultrastructure of the stellate cells of the *Pars distalis* of the guinea-pig. *J. Anat.* 124: 153-156.

YOUNG, B.A., FOSTER, C.L., CAMERON, E. 1965. Some observations on the ultrastructure of the adenohipophysis of the rabbit. *J. Endocrinol.* 31:279-287.