

ESTUDIO ESTRUCTURAL, INMUNOCITOQUÍMICO Y ULTRAESTRUCTURAL DE LAS CÉLULAS PRL DE CORDERO (*Ovis aries* L.).

Structural, immunocytochemical and ultrastructural study of PRL cells of lamb (*Ovis aries* L.)

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

U. D Histología y Anatomía Patológica. Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica comparadas y Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. Espinardo. 30071 Murcia. España.

Recibido: 23 octubre 1989

Aceptado: 25 enero 1990

RESUMEN

Se estudia la estructura de las células PRL de 12 corderos (6 machos y 6 hembras) utilizando técnicas de tinción e histoquímicas (tetracromo de Herlant, PAS, PAS-OG, AA-PAS-OG y Cleveland-Wolfe) contrastadas mediante inmunomarcaje (ABC). La identificación ultraestructural se ha basado en la comparación de cortes semifinos inmunomarcados con la técnica PAP adyacentes a ultrafinos. Las células PRL se distribuyen por toda la *Pars distalis*, excepto en la franja que cruza la glándula en sentido rostro-caudodorsal, siendo las más abundantes (60-70%). Tienen un tamaño medio de 15,25 μm en los machos y de 16,1 μm en las hembras. Ultraestructuralmente destaca el gran tamaño de los gránulos de secreción (310 nm), esféricos y muy electrodensos.

Palabras clave: células PRL, inmunocitoquímica, *Pars distalis*, adenohipófisis, ovino.

SUMMARY

Lamb adenohipophyseal *Pars distalis* (PD) was immunohistochemically studied with antiserum for human PRL hormone by use of the superimposition technique on adjacent sections by light and electron microscopy. PRL cells are the most abundant (60-70%) and they are not observed in the rostro-caudo-dorsal fringe. They have a size of 15,25 μm in male and 16,1 μm in female. Their secretion granules are large (310 nm), spherical and electrodense.

Key words: PRL cell, immunocytochemical, *Pars distalis*, adenohipophysis, lamb.

INTRODUCCIÓN

Las células PRL son denominadas "mamotropas", "células productoras de prolactina" o "lactotropas" y se consideran un subtipo de las células cromófilas acidófilas (DAWSON, 1946). Son orangófilas y eritrosinófilas en la oveja (MOLINA, 1984; GUTTE y SEEGER, 1987) y cabra (GÓMEZ, 1987; NAVARRO 1987). Existe una controversia en relación con la aptencia de estas células por el reactivo de Schiff. Así, en la oveja según HASSAN et al. (1981), ORTMAN (1987) y GUTTE y SEEGER (1987) son débilmente PAS positivas, mientras que para MOLINA (1984) son PAS negativas. Ultraestructuralmente se han descrito múltiples tamaños y formas de sus gránulos de secreción dependiendo de la especie (HERLANT, 1963). En la oveja miden de 113 a 667 nm, con una morfología ovoide o redondeada (PARRY et al., 1978).

El objetivo de este trabajo es el estudio de las características histoquímicas, estructurales, ultraestructurales y morfométricas de las células PRL identificadas mediante técnicas inmunocitoquímicas basadas en la utilización del complejo avidina biotina (ABC) y el sistema peroxidasa-antiperoxidasa (PAP) en cortes seriados.

MATERIAL Y MÉTODOS

El material y métodos son similares a los

empleados en un trabajo previo (Gómez et al. 1989), excepto el antisuero (anti-PRLh, Dako) utilizado a la dilución 1: 250 durante 3 horas a temperatura ambiente.

RESULTADOS

Estudio estructural

Las células marcadas con suero anti-PRLh se encuentran en un porcentaje del 60-70%, y se distribuyen por toda la *Pars distalis*, excepto en la franja que cruza la glándula en sentido rostro-caudodorsal (FIG. 1). Se presentan fundamentalmente en grupos constituyendo cordones glandulares completos (FIGS. 1-4).

Las células PRL son PAS positivas; con el PAS-OG se tiñen de rojo-naranja intenso; con el Cleveland-Wolfe de rojo; con el tetracromo de Herlant de rojo violáceo y rojo anaranjado débil con el azul alcian-PAS-OG (FIGS. 2-4).

Tienen morfología variable, desde redondeada a rectangular o triangular, predominando la forma alargada. Su tamaño medio estimado es de 15,25 μm de diámetro en los machos y de 16,1 μm en las hembras (CUADRO 1).

El núcleo es esférico, desplazado hacia un extremo, rico en cromatina, frecuentemente escotado y con un diámetro medio estimado de 7,25 μm en los machos y 7,47 μm en las hembras (CUADRO 1).

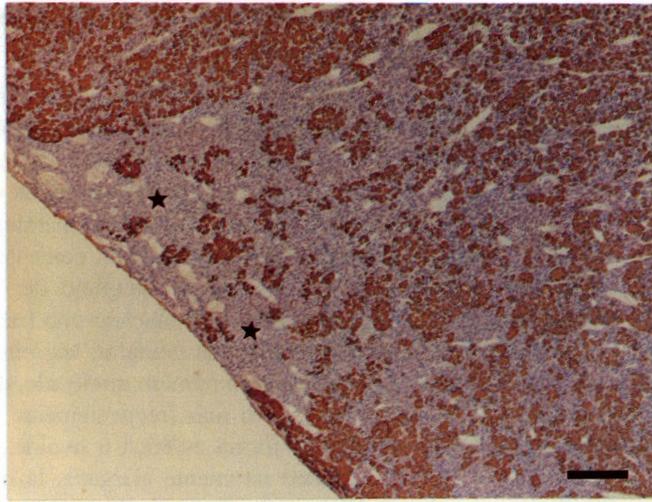
El citoplasma presenta fuerte inmunotinción

FIGURA 1 a, b. Distribución de las células PRL (a) en corte sagital, dejando libre la porción anterior (estrellas). Suero anti-PRL. ABC. Barra = 100 μm . (b) Inmunotinción en corte semifino. Las células PRL se disponen a modo de cordones y acinos (asteriscos), raramente aisladas (flecha). PAP. Barra = 25 μm .

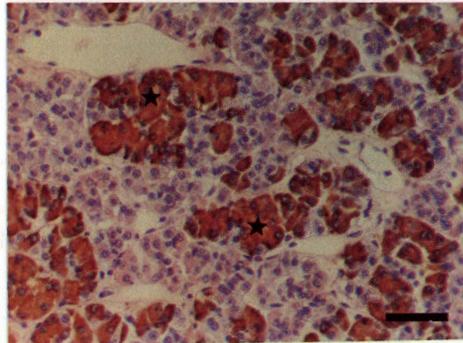
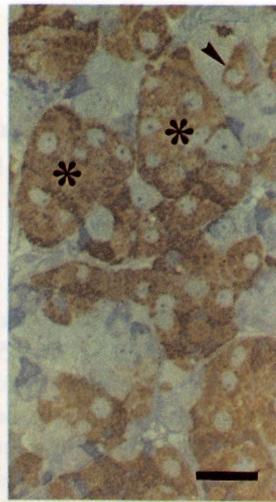
FIGURA 2 a, b. Cortes adyacentes teñidos con suero anti-PRLh (a) y PAS (b). Las células PRL (estrellas) son PAS positivas. ABC. Barra = 25 μm .

FIGURA 3 a, b. Cortes adyacentes teñidos con suero anti-PRLh (a) y PAS-OG (b). Las células PRL (estrellas) en acinos son de color pardoamarillento. ABC. Barra = 25 μm .

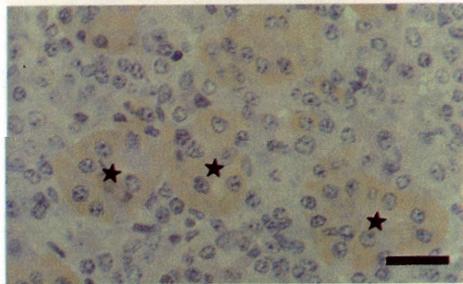
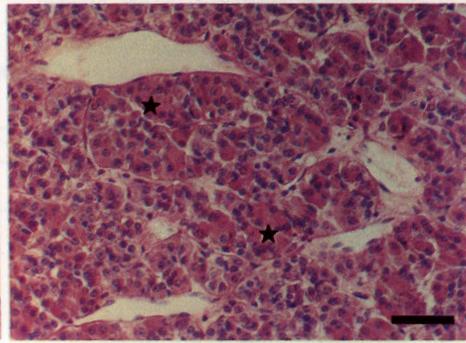
FIGURA 4 a, b. Cortes adyacentes teñidos con suero anti-PRLh (a) y Cleveland-Wolfe (b). Las células PRL se tiñen de rojo con el Cleveland-Wolfe. ABC. Barra = 25 μm .



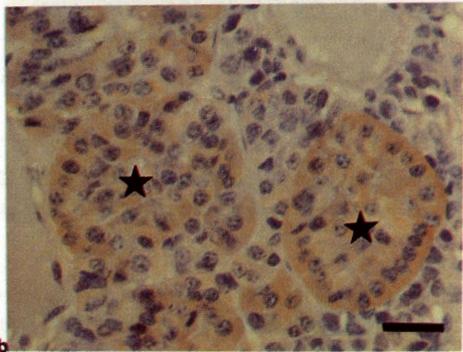
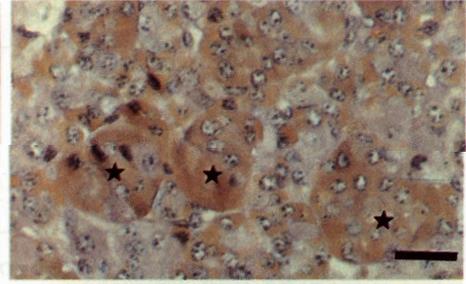
1ab



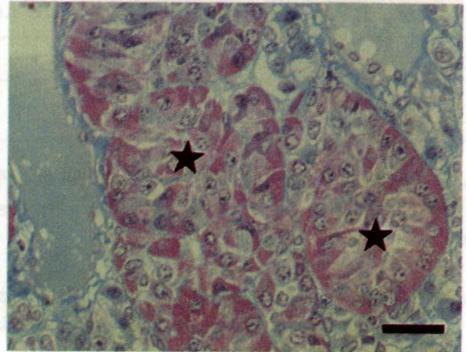
2ab



3ab



4ab



con el ABC, tomando un color marrón oscuro (FIGS. 1-2). Muchas veces manifiestan un aspecto sincitial por tener límites poco definidos.

Estudio ultraestructural

Los gránulos de secreción de las células PRL son esféricos, muy electrodensos, con un diámetro de 310,01 nm (158,72-555,72; CUADRO 2) y distribuidos por todo el citoplasma.

Según sus contornos y estructuras membranosas se diferencian dos tipos celulares:

Uno, constituido por células de núcleo redondeado u ovoide y moderadamente electro-

denso; el retículo endoplásmico granular (FIG. 5) se extiende por todo el citoplasma a modo de cisternas estrechas o ligeramente dilatadas, generalmente comunicadas entre sí; otras veces puede observarse una disposición paralela de las cisternas, en número de 2 ó 3, cercanas a la membrana plasmática; el complejo de Golgi ocupa una gran área yuxtannuclear con frecuentes figuras de formación granular; las mitocondrias son escasas o en número moderado, distribuidas al azar, pero más frecuentemente en el área del Golgi, forma esférica u ovoide, de 1 μ m de diámetro raramente alargada, la matriz mitocondrial moderadamente electrodensa y las

CUADRO 1
DIÁMETROS MEDIOS Y ESTADÍSTICOS DEL CITOPLASMA Y NÚCLEO DE LAS CÉLULAS PRL DE CORDERO (MACHO Y HEMBRA) EN UM

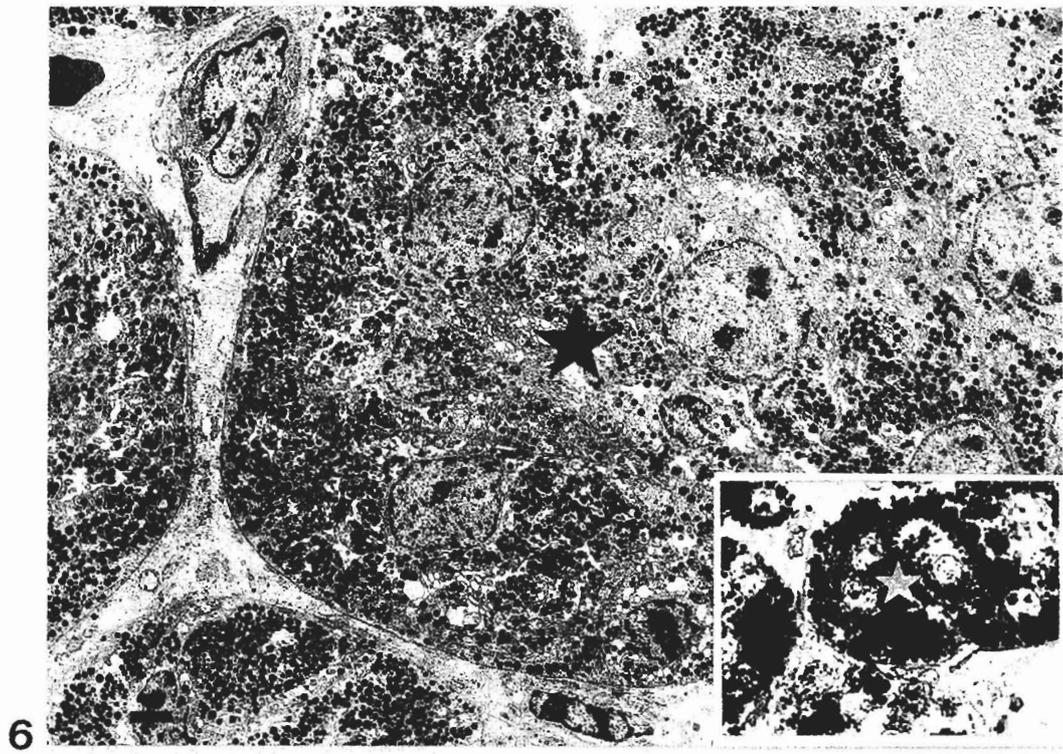
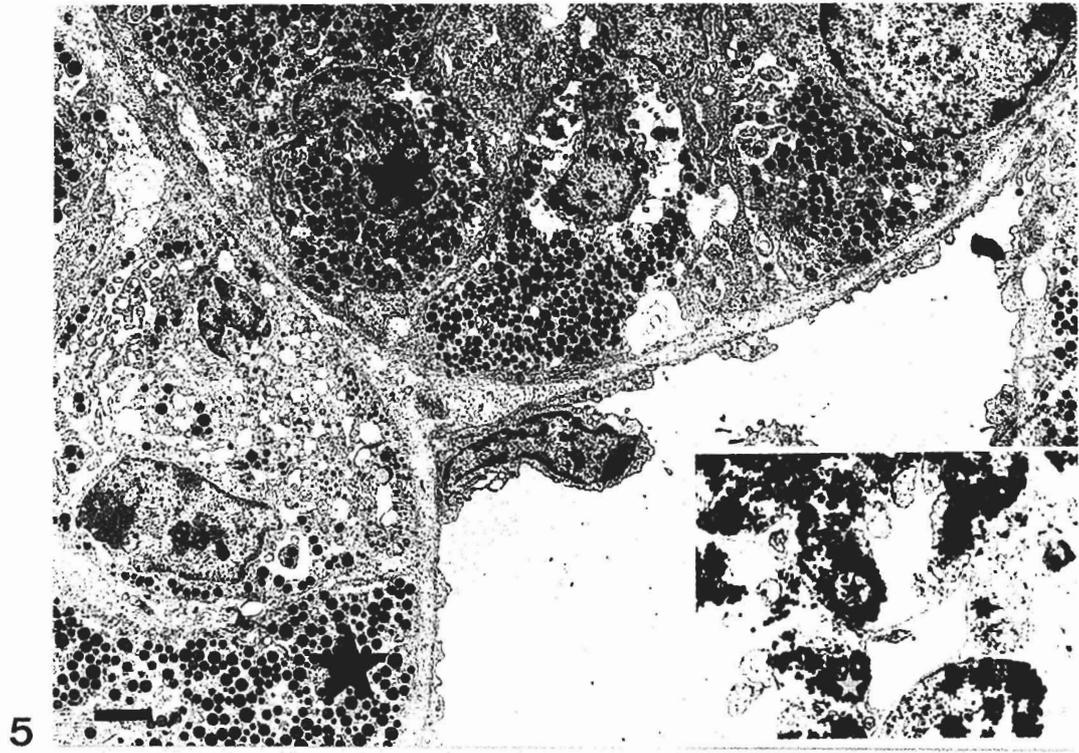
	X	S. D.	C. V.	S. E.	I. C.
Macho					
Citopl.	15,25	3,37	22,10	0,23	14,78-15,71
Núcleo	7,25	0,97	13,42	0,06	7,11-7,38
Hembra					
Citopl.	16,12	4,01	24,88	0,15	15,82-16,42
Núcleo	7,47	0,89	11,92	0,43	7,38-7,55

CUADRO 2
ESTADÍSTICOS DEL DIÁMETRO DE LOS GRÁNULOS DE SECRECIÓN (NM)

X	S. D.	C. V.	S. E.	I. C.
310.01	56.95	18.37	1.31	307.41-312.62

FIGURA 5. Células inmunomarcadas con suero anti-PRLh (estrellas) en la sección adyacente (PAP. Detalle 625A), con abundantes gránulos de secreción y límites netos dispuestos en acinos alrededor de una cavidad folicular (asterisco). Barra = 2 μ m.

FIGURA 6. Acúmulos de células inmunomarcadas con suero anti-PRLh en la sección adyacente (PAP. Detalle 683A). Núcleos de contornos irregulares. Retículo endoplásmico granular y complejo de Golgi con cisternas dilatadas. Barra = 2 μ m.



crestas, escasas, dispuestas más o menos perpendicularmente al eje mayor; es frecuente observar cilios y lisosomas, moderadamente electrodensos, de 400-500 nm de diámetro, en los que se aprecia netamente la membrana que los envuelve.

El otro tipo de célula (FIGS. 6, 7) se caracteriza por sus núcleos irregulares y la escasa definición de sus contornos citoplasmáticos, asemejándose a un sincitio; el retículo endoplásmico granular (FIG. 7) se dispone a modo de vacuolas redondeadas, dando lugar a "isletas citoplasmáticas" con gránulos de secreción, y un contenido homogéneo y moderadamente electrodenso; el complejo de Golgi es casi circular, a veces disperso, con microvesículas moderadamente electrodensas en su centro; las mitocondrias son similares a las anteriores; los

lisosomas son mayores y más frecuentes que en el primer tipo celular.

DISCUSIÓN

Las células productoras de prolactina son orangófilas y eritrosinófilas como indican MIKAMI y DAIMON (1968), TASSELL y KENNEDY (1972), MOLINA (1984) y GUTTE y SEEGER (1987), características compartidas con las de la especie caprina (HIFNY et al., 1981; GÓMEZ, 1987; NAVARRO, 1987). Frente al reactivo de Schiff manifiestan distinta intensidad de revelado, lo que se traduce en la disparidad de criterios al respecto. En la especie ovina se describen débilmente positivas (RACADOT, 1963; MIKAMI y DAIMON, 1968;

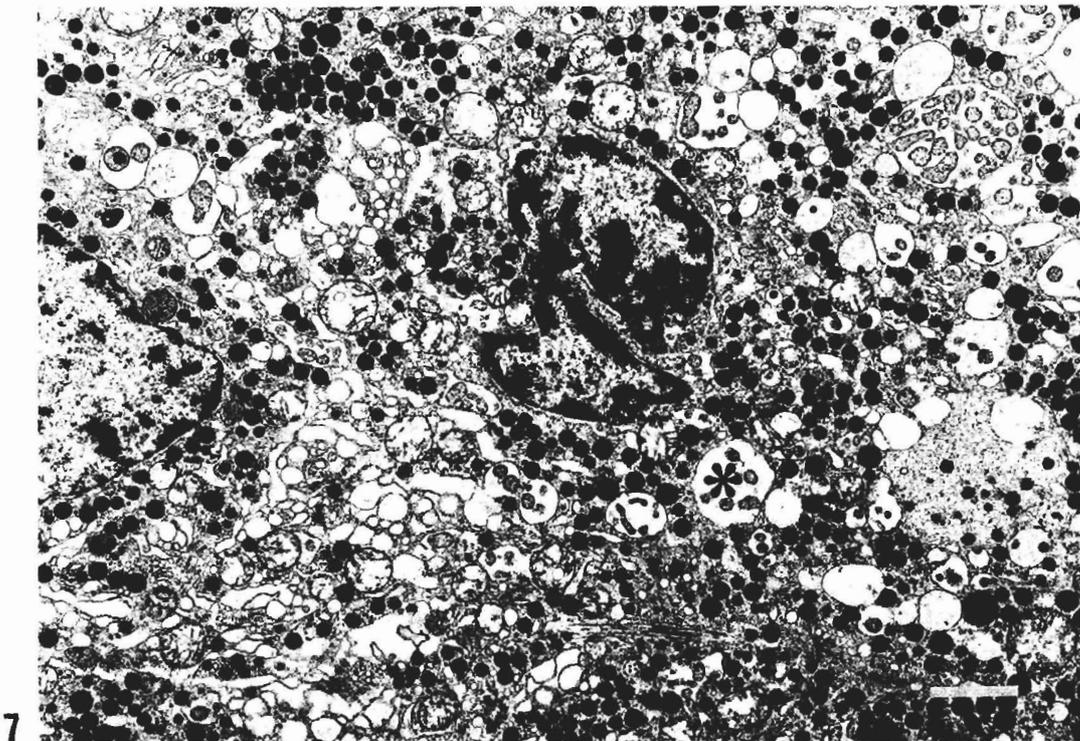


FIGURA 7. Célula PRL de núcleo irregular y límites intercelulares imprecisos con cisternas del retículo endoplásmico dilatadas e intercomunicadas limitando áreas citoplasmáticas a modo de isleta (asteriscos). Barra = 2 μ m.

TASSELL y KENNEDY, 1972; HASSAN et al., 1981; ORTMAN, 1987; GUTTE y SEEGER, 1987) o negativas (MOLINA, 1984). La reacción en las células PRL de cordero es de mayor intensidad que la descrita por los primeros autores mencionados, a semejanza de lo observado por GÓMEZ (1987) en caprino y MIKAMI (1970) en vacuno. Habría que considerar la opinión de NAVARRO (1987) en cuanto a la posible existencia de células PRL positivas y células PRL negativas de acuerdo con el estado fisiológico de los animales.

La distribución es similar a la que tiene lugar en la especie caprina (NAVARRO, 1987; GÓMEZ, 1987) y no se han encontrado diferencias topográficas notables, en contraposición con lo señalado por ORTMAN (1987) y GUTTE y SEEGER (1987).

Las células PRL son las más numerosas de todas las células glandulares adenohipofisarias en el cordero. Existe concordancia con otros autores respecto a la abundancia de este tipo celular (TASSEL y KENNEDY, 1968; HASSAN, et al., 1981; HIFNY et al., 1983), aunque para éstos no sea siempre el predominante, y especialmente con WEBB (1981). De cualquier manera estas observaciones están en franca discrepancia con las de MOLINA (1984), quien las considera las más escasas, con cifras del 2%, en el cordero.

La disposición en cordones homogéneos y grupos celulares es característica de los rumiantes (HERLANT, 1973; GUTTE y SEEGER, 1987; GÓMEZ, 1987).

El tamaño celular es superior al descrito por ORTMAN (1987) y HASSAN et al. (1987) en ovino y GÓMEZ (1987) en cabritos, resultando algo más próximo al señalado por MOLINA (1984) en corderos. Estas células son mayores que las GH, afirmación que concuerda con las observaciones de GUTTE y SEEGER (1987) en la oveja.

El núcleo no muestra características morfológicas diferenciales frente al resto de las células glandulares, siendo su tamaño similar al

descrito por MOLINA (1984) y superior al señalado por ORTMAN (1987).

Los gránulos de secreción de las células mamotropas del cordero son esféricos y electrodensos, coincidiendo con ALEXANDER et al. (1973), PARRY et al. (1978, 1979) y WEBB (1981). El evidente polimorfismo de los gránulos de secreción descrito por MOLINA (1984) no ha podido ser constatado. Su diámetro es el mayor de todas las células adenohipofisarias, de acuerdo con PARRY et al. (1977) y WEBB (1981) en ovino, SHIRASAWA et al. (1985) y GÓMEZ (1987) en la cabra y MIKAMI (1970) en el vacuno. Sin embargo, DACHEUX y DUBOIS (1976) en esta última especie consideran los gránulos de las células GH los más grandes.

Se han diferenciado dos tipos de células atendiendo a la conformación del retículo endoplásmico y al contorno celular. Uno coincide con la morfología de las denominadas células PRL "típicas" y el otro, con las células PRL "atípicas" de GÓMEZ (1987) en cabritos. El elemento celular "atípico" encontraría correspondencia con la célula "somatomamotropa" de FUMAGALLI y ZANINI (1985), que según KUROSUMI et al. (1986) obedecería a cambios post-mortem.

El patente desarrollo del complejo de Golgi descrito en ovino (PARRY et al., 1978, 1979) se ha podido constatar en este estudio.

La bibliografía consultada referente a la especie ovina no aporta datos que permitan establecer comparaciones con estructuras tales como los lisosomas o los cilios presentes. No obstante, en el caprino se han descrito tales formaciones, aunque no se consideran características (GÓMEZ, 1987; NAVARRO, 1987).

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a D. A. Falagán (INIA) la ayuda prestada en la obtención de las muestras; a D. M. Orenes y D. J. Sánchez su asistencia técnica en los cortes histológicos y al personal del Servicio de Microscopía Electrónica de la Universidad de Murcia por su colaboración en la parte ultraestructural.

BIBLIOGRAFÍA

- ALEXANDER, D. P.; BRITTON, H. G.; CAMERÓN, E.; NIXON, C. L.; FOSTER, D. A. 1973. Adenohypophysis of foetal sheep: correlation of ultrastructural with functional activity. *J. Physiol.* 230: 10-13.
- DACHEUX, F., DUBOIS, M. P. 1976. Ultrastructural localization of prolactin, growth hormone and luteinizing hormone by immunocytochemical techniques in the bovine pituitary. *Cell Tissue Res.* 174: 245-260.
- DAWSON, A. B. 1976. Some evidences of specific secretory activity of the anterior pituitary gland of the cat. *Am. J. Anat.* 78: 347-402.
- FUMAGALLI, G.; ZANINI, A. 1985. In cow anterior pituitary, growth hormone and prolactin can be packed in separate granules of the same cell. *J. Cell Biol.* 100: 2.019-2.024.
- GÓMEZ, M. A. 1987. Estudio histoquímico y ultraestructural de la *Pars distalis* adenohipofisaria de cabritos de raza murciano-granadina. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria Universidad de Murcia.
- GÓMEZ, S.; BERNABÉ, A.; NAVARRO, J. A.; SÁNCHEZ, J.; GÓMEZ, M. A. 1989. Estudio estructural, inmunocitoquímico y ultraestructural de las células GH del cordero (*Ovis aries* L.). *An. Vet. (Murcia)*. 5: 54-58.
- GUTTE, V. G.; SEEGER, J. 1987. Zur histologischen Differenzierung der Hypophysenvorderlappenzellen beim Schaf (*Ovis aries* L.). *Mh. Vet.-Med.* 42: 465-468.
- HASSAN, A. H. S.; KAMEL, G.; EL-HOMMOSI, F. F. 1981. The effect of zeranol implantation on some endocrine glands and gonads in fat-tailed lambs. 1981. *Z. Mikrosk. Anat. Forsch.* 95: 634-646.
- HERLANT, M. 1963. Apport de la microscopie électronique a l'étude du lobe antérieur de l'hypophyse. En: *Cytologie de l'Adenohypophyse* (Eds. J. Benoit y Ch. Da Lage) pp. 73-86. CNRS, París.
- HERLANT, M. 1973. L'hypophyse. En: *Traite de Zoologie*. Tomo XVI, fascículo V, Volumen II (Ed. P. P. Grasse) pp. 298-447. Masson et Cie, París.
- HIFNY, A. HASSAN, A. H. S., KAMEL, G. EL-KERDAWY, A. 1983. Qualitative and quantitative cell type population in the *Pars distalis* of the pituitary gland in the male goat around the year. *Assiut Vet. Med. J.*, 11: 27-34.
- KUROSUMI, K.; KOYAMA, T.; TOSAKA, H. 1986. Three types of growth hormone cells of the rat anterior pituitary as revealed by immunoelectron microscopy using a colloidal gold antibody method. *Arch. Histol. Jap.* 49: 227-242.
- MIKAMI, S.; 1970. Light and electron microscopic investigations of six types of glandular cells of the bovine adenohypophysis. *Z. Zellforsch.* 105: 457-482.
- MIKAMI, S.; DAIMON, T. 1968. Cytological and cytochemical investigations of the adenohypophysis of the sheep. *Arch. Histol. Jap.* 29: 427-445.
- MOLINA, M.; 1984. Estudio histológico de las células TSH, STH, ACTH y LTH de la adenohipofisis de corderos de raza Merina tratados con estradiol y acetato de trenbolona. *INIA, Anales serie Ganadera* 20: 27-55.
- NAVARRO, J. A. 1987. Modificaciones de la *Pars distalis* adenohipofisaria de cabra Murciano-granadina en anestro, gestación y producción láctea: Estudio inmunocitoquímico y ultraestructural. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia.
- ORTMAN, R. 1987. A correlative immunochemical an cytological study of the two types of acidophils in the anterior lobe of the pituitary of the ram. *Z. Mikros. Anat. Forsch.* 101: 962-972.
- PARRY, D. M.; McMILLEN, I. C.; ROBINSON, J. S.; THORBURN, G. D. 1979. Immunocytochemical localisation of prolactin and growth hormone in the perinatal sheep pituitary. *Cell Tissue Res.* 197: 501-514.
- PARRY, D. M.; McMILLEN, I. C.; WILLCOX, D. L. 1978. Immunocytochemical localisation of prolactin and growth hormone in the ovine pituitary. *Cell Tissue Res.* 194: 327-336.
- SHIRASAWA, N.; KIHARA, H.; YOSHIMURA, F. 1985. Fine structural and immunohistochemical studies of goats adenohypophyseal cells. *Cell Tissue Res.* 240: 315-321.
- TASSELL, R.; KENNEDY, J. P. 1972. Tinctorial differentiation of the cell types in the pars anterior of the sheep. *Aust. J. Biol. Sci.* 25: 1.249-1.257.
- WEBB, P. D. 1981. The *Pars distalis* (Anterior pituitary) in the fetal sheep: an ultrastructural study. *J. Develop. Physiol.* 3: 319-332.